

Orsay
Série A,
N° d'ordre : 755

THÈSE

DE DOCTORAT D'ÉTAT ÈS SCIENCES NATURELLES

présentée

A LA FACULTÉ DES SCIENCES D'ORSAY
UNIVERSITÉ DE PARIS

par

Odile BAIN

pour obtenir

LE GRADE DE DOCTEUR ÈS SCIENCES

ÉVOLUTION DES FILAIRES CHEZ LE VECTEUR :
MORPHOLOGIE LARVAIRE ET MÉCANISMES
DU PASSAGE DES MICROFILAIRES
DANS L'HÉMOCÈLE

Soutenue le 3 avril 1971 devant la Commission d'Examen

MM. BERGERARD, *Président*

BOCQUET
CHABAUD
NELSON

} *examineurs*

PARIS
1971



Transmission des Filarioses

Limitation des passages des microfilaires ingérées vers l'hémocèle du vecteur ; interprétation *

par O. BAIN

Laboratoire de Zoologie (Vers) Centre Muraz - Section Onchocercose
Bobodioulasso, Haute-Volta

Résumé.

Summary.

Introduction.

Chapitre I : Mise en évidence d'un nombre critique de microfilaires ingérées (seuil de limitation) au-dessus duquel le pourcentage de réussite des microfilaires diminue ; existence de microfilaires aptes et de microfilaires inaptes à traverser la paroi stomacale du vecteur.

Chapitre II : Remarques sur la distribution de fréquence des vecteurs en fonction du nombre des microfilaires ingérées ; coexistence de deux modes de répartition des microfilaires chez le donneur.

A. — *Wuchereria* — *Anopheles*.

B. — *Wuchereria* — *Aedes*.

C. — *Setaria* — *Aedes*.

D. — *Onchocerca* — *Simulium*.

Chapitre III : Les vecteurs, dont les prises de microfilaires sont comprises entre 0 et le seuil de limitation, correspondent à ceux qui ont une distribution poissonnienne.

Chapitre IV : La possibilité, pour un même vecteur, d'ingérer des « microfilaires + » ou des « microfilaires — » pourrait s'expliquer par l'existence de deux modes de piqure.

Conclusions. Mesure du degré d'adaptation Filaire-vecteur.

* Ces recherches ont pu être effectuées grâce à une subvention de l'Organisation Mondiale de la Santé.

Résumé

Seule une fraction des microfilaires ingérées par le vecteur passe dans l'hémocèle et peut se développer en stades infectants. Il existe deux types de relations numériques entre microfilaires ingérées et microfilaires passées dans l'hémocèle :

1) la proportion des microfilaires passées dans l'hémocèle augmente en fonction du nombre des microfilaires ingérées : c'est la facilitation, observée chez le couple *Wuchereria bancrofti* - *Anopheles gambiae* A (457 ♀ disséquées) et étudiée dans un article précédent.

2) le nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle est proportionnel au nombre des microfilaires ingérées pour les faibles prises de microfilaires ; puis, quand le repas est plus riche en microfilaires, il atteint un chiffre limite : c'est la limitation, mise en évidence chez 3 couples : *Wuchereria bancrofti* - *Aedes aegypti* (100 ♀ disséquées), *Setaria labiatopapillosa* - *A. aegypti* (357 ♀ disséquées), *Onchocerca volvulus* - *Simulium damnosum* (550 ♀ disséquées).

1) Interprétation du phénomène de limitation.

Aucune image histologique ne permet de l'expliquer. Par contre, un ensemble de faits, issus d'analyses des résultats numériques, conduit à une hypothèse qui fait intervenir à la fois l'état physiologique et le mode de dispersion des microfilaires chez l'hôte vertébré.

a) Chez les 3 couples Filaire-vecteur, présentant le phénomène de limitation, on constate que le nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle est proportionnel au nombre des microfilaires ingérées jusqu'à un nombre critique de microfilaires ingérées, que nous appelons le seuil de limitation (il est de 25 microfilaires chez *Wuchereria* - *Aedes*, 6-9 microfilaires chez *Setaria* - *Aedes* et 3 microfilaires chez *Onchocerca* - *Simulium*) ; au-dessus de ce seuil, la proportion décroît. Tout se passe donc comme si le vecteur qui fait de petits repas de microfilaires prélevait des microfilaires physiologiquement aptes à traverser la paroi stomacale (microfilaires +) et que le vecteur qui fait des repas riches en microfilaires prélevait des microfilaires inaptes à traverser la paroi stomacale (microfilaires —).

b) L'analyse de la distribution des vecteurs en fonction du nombre de microfilaires ingérées montre qu'une partie des femelles semble prélever ses repas dans un milieu où les microfilaires ont une dispersion homogène (distribution des femelles selon une courbe de Poisson) et qu'une autre partie des femelles semble prélever des microfilaires dans un autre milieu, où elles sont dispersées de façon anarchique et en densités plus fortes (dis-

tribution des femelles « non poissonienne »). Les deux ensembles de distributions se recouvrent légèrement, à leur contact.

c) Si l'on marque en abscisses sur les histogrammes de distribution des femelles le seuil de limitation, on constate qu'il correspond à la séparation entre la population des femelles à distribution essentiellement poissonienne et le reste de la population, comprenant l'aire de recouvrement plus la distribution résiduelle. Cette corrélation (retrouvée trois fois) signifie pour nous que la population des femelles chez laquelle le pourcentage de réussite des microfilaires est élevé correspond à la population des femelles qui a une distribution poissonienne. Ainsi, les microfilaires dispersées de façon homogène semblent correspondre aux microfilaires aptes à traverser la paroi stomacale (microfilaires +).

d) La possibilité, pour un même vecteur, d'ingérer des « microfilaires + » ou des « microfilaires — » semble être étayée par la mise en évidence chez *A. aegypti* de deux mécanismes de piqûre (Gordon et Lumsden, 1939).

2) Conséquences.

L'étude de la distribution des vecteurs en fonction du nombre des microfilaires ingérées apparaît comme un moyen de mesurer le degré de coaptation du couple Filaire-vecteur. Dans le cas d'une parfaite adaptation, seules les « microfilaires + » doivent être ingérées, ce qui se traduira par une distribution poissonienne du vecteur. Le couple *Dipetalonema perstans* - *Culicoides austeni* semble réaliser cet équilibre (chiffres publiés par Nicholas et Kershaw, 1954).

Au contraire, chez *Onchocerca* - *Simulium* (souche voltaïque), la plupart des *Simulies* ingèrent des microfilaires inaptes à traverser la paroi stomacale. Mais ce même couple, en région forestière du Cameroun ne paraît pas présenter un tel degré d'inadaptation (chiffres de Duke et Lewis, 1964). L'adaptation Filaire-vecteur, qui est le résultat d'une longue suite de sélections, varie d'une région géographique à l'autre.

Summary

From all microfilariae ingested by the vector, only a fraction of the total lot is able to reach the hoemocel and develop into infective stages. The numerical relations between the ingested lot and the hoemocel-reaching microfilariae are of two kinds.

1) The percentage of the hoemocel-reaching microfilariae increases with the number of ingested parasites: it is the facilitation phenomenon which has been observed in the couple *Wuche-*

reria bancrofti - *Anopheles gambiae* A (457 dissected females) and studied in a previous paper.

2) The number of microfilariae that are able to reach the hoemocel is proportional to the number of ingested microfilariae during a slight meal of microfilariae; but when the rate of ingestion increases (heavier meal of microfilariae) this number is limited: it is the limitation phenomenon which has been observed in three couples: *Wuchereria bancrofti* - *Aedes aegypti* (100 dissected females), *Setaria labiatopapillosa* - *A. aegypti* (357 dissected females), *Onchocerca volvulus* - *Simulium damnosum* (550 dissected females).

1) Interpretation of the limitation phenomenon.

No explanation could be found from histological observations, but an analysis of the numerical results leads to an hypothesis which takes into account both the physiological state and the distribution pattern of the microfilariae in their vertebrate host.

a) In the three couples Filaria-vector, which display the limitation phenomenon, it was observed that the number of microfilariae, which have reached the hoemocel, is proportional to the number of ingested microfilariae up to a critical figure, which we name the limitation point (25 microfilariae in *Wuchereria* - *Aedes*, 6-9 microfilariae in *Setaria* - *Aedes* and 3 microfilariae in *Onchocerca* - *Simulium*); above this point, the proportion decreases. Everything seems to occur as if the vector during a slight meal was able to select some microfilariae which are physiologically fitted for crossing the stomach wall (microfilariae +), and, on the contrary, as if a vector having a heavy meal of microfilariae could possibly ingest an amount of microfilariae which are unable to cross the stomach wall (microfilariae —).

b) An analysis of the vector distribution according to the number of ingested microfilariae has shown that some of the females seem to feed on a medium microfilariae are evenly distributed (distribution of females according to Poisson's curve), while other females seem to feed on another medium where microfilariae are disorderly distributed and with higher densities (distribution of females not following the Poisson curve). The two distribution areas are slightly overlapping.

c) If we put on the abscissa of the distribution of the females' histograms the values of the limitation points, we observe that it is in correlation with the disjunction between the population of females strictly following the Poisson curve, and the remaining lot of the population including the overlapped area plus the residual distribution area. To our opinion this correlation, which has been observed three times, indicates that the female population where the percentage of successful microfilariae is high, is

significant also of a female population which is distributed according to the Poisson curve. Thus the evenly distributed microfilariae seem to include the microfilariae which are able to cross the stomach wall (microfilariae +).

d) The possibility for the same vector to ingest either microfilariae + or microfilariae — seems to be supported by the fact that two different stinging processes have been observed on *Aedes aegypti* (Gordon et Lumsden, 1939).

2) Consequences.

The study of the vector distribution related to the number of ingested microfilariae seems to be an efficient tool when attempting to measure the coaptation coefficient in the couple Filaria-vector. In the case of a complete adaptation, the microfilariae + only are supposed to be ingested and this is shown by a vector distribution following Poisson's curve. This is demonstrated by the couple *Dipetalonema perstans* - *Culicoides austeni* (figures published by Nicholas and Kershaw, 1954).

On the contrary in *Onchocerca* - *Simulium* (Upper Volta strain) most of the Simulies ingest microfilariae which are unable to cross the stomach wall. But in the Cameroun forest this couple displays a lower inadaptation possibility (figures given by Duke et Lewis, 1964). The adaptation Filaria-vector which is the result of some long and successive selections is submitted to variations according to different geographic areas.

Introduction

Dans deux articles précédents (Bregues et Bain, sous presse, et Bain et Bregues, sous presse) nous avons mis en évidence deux types de relations numériques entre les microfilaires ingérées et celles qui passent dans l'hémocèle : la facilitation et la limitation.

Le détail des conditions expérimentales et des données numériques, ainsi qu'un exposé préliminaire de nos conclusions, a été distribué sous forme de thèse polycopiée (1971).

Dans la facilitation, la proportion des microfilaires quittant l'estomac augmente avec le nombre des microfilaires ingérées. Un tel phénomène, observé chez le couple *Wuchereria bancrofti*-*Anopheles gambiae* A semble être dû à une forte réaction de l'épithélium digestif au passage des microfilaires : les cellules atteintes sont hypertrophiées et constituent des sites nouveaux très favorables à des passages ultérieurs de microfilaires.

Dans la limitation, la proportion des microfilaires quittant l'estomac diminue quand le nombre des microfilaires ingérées augmente, et le nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle ne dépasse pas une valeur limite, variable avec chaque couple Filare-vecteur. Ce phénomène a été établi chez *Setaria labiopatillosa*-*Aedes aegypti* et *Wu-*

chereria bancrofti-Aedes aegypti, mais il existe également chez *Onchocerca volvulus-Simulium damnosum* (Philippon et Bain, sous presse).

Nous n'avons pas trouvé de particularités anatomiques du vecteur susceptibles d'expliquer la limitation. Par contre, un ensemble de faits, issus d'analyses des résultats numériques, conduit à une hypothèse qui fait intervenir à la fois l'état physiologique et le mode de dispersion des microfilaires chez l'hôte Vertébré.

Chapitre I

Mise en évidence d'un nombre critique de microfilaires ingérées (seuil de limitation) au-dessus duquel le pourcentage de réussite des microfilaires diminue ; existence de microfilaires aptes et de microfilaires inaptes à traverser la paroi stomacale du vecteur.

Pour chaque couple Filare-vecteur nous reportons individuellement les résultats numériques des dissections, puis nous groupons les Moustiques examinés par classes, en fonction du nombre de microfilaires ingérées ; nous évaluons le pourcentage de microfilaires passées dans l'hémocèle pour l'effectif de chaque classe (fig. 1 à 3). Ceci

M. I.	M. P.	% M. P.
1	0-1-1	66,6
2		
3	0-1	33,3
4	1-4	62,2
5	3-1-5	56
6	4	66,6
7	3-4-7	66,6
8		
9	5-4-5-5	52,9
10-15	7-11-5	63
16-20	2-8-4-4-12-11-4-6	35
21-25	7-0-17-13-16	41,6
26-30	2	6,9
31-40	1-4-5	9,5
41-50	7-14-3-2-9-12	17,2
51-70	8-9-14-11	18,5
71-100	11-16-16	17,2
100-150	3-6-6-9	4,8
150-200		
200-300	12	4,8

FIG. 1. — *Wuchereria bancrofti*, *Aedes aegypti*. Rapport numérique entre microfilaires ingérées (M.I.) et microfilaires passées dans l'hémocèle (M.P.) (dans la colonne de gauche, les ♀ ayant ingéré plus de 10 microfilaires sont groupées par classes de plus en plus importantes ; dans la colonne du milieu, le nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle est donné séparément pour chaque ♀ disséquée).

Dans ce tableau, nous utilisons les dissections effectuées 12 h et 24 h après le repas

permet d'exposer les variations de ce pourcentage en fonction du nombre de microfilaires ingérées.

1) *W. bancrofti-A. aegypti* (fig. 1).

Le pourcentage des microfilaires qui passent dans l'hémocèle reste élevé (de 40 à 60 %) quand les Moustiques prélèvent de 1 à 25 microfilaires ; au-delà de 25 microfilaires ingérées, le pourcentage de réussite décroît pour atteindre des valeurs très basses de l'ordre de 5 %.

2) *S. labiatopapillosa-A. aegypti* (fig. 2).

Dans ce couple, les résultats sont moins clairement lisibles ; le pourcentage de réussite des microfilaires est élevé pour les petites prises de microfilaires ; au-delà de 6-9 microfilaires ingérées, ce pourcentage décroît.

M. I.	M. P.	% M. P.
1	1-1-1-1-1-0	76
2	2-2-2-2-2-2-2-2-1-1-1-1-1-0	66
3	2-2-2-2-1-1-1-1-3-3-1-1-1	59
4	4-2-1-1-0-4-2-1-1-0-0-2-2-0	38
5	5-3-3-4-3-1-3-2-2-1-1	52
6	4-3-1-1-1-0-5-4-1-1	41
7	1-1-1-6-2-4-2-1-0	28
8	3-3-3-3-4-4-1-3-2-1	26
9	6-4-1-5-9-2-1-1-5	42
10	2-2-2-1-1-4-4-3-1	22
11	5-1-1-4-9-3-3-3-2	29
12	2-2-2	17
13	0-3	} 28
14	1-9-7-2	
15	2-0-6-3-3	
16-20	9-4-2-2-0-6-5-4-4-3-1-2-0	18
21-25	2-1-8	6,5
26-30		
31-35		
36-40		
41-45		
46-50	12	25
51-60		
61-160	54	
161-270	238	

FIG. 2. — *Setaria labiatopapillosa, Aedes aegypti*. Rapport numérique entre microfilaires ingérées et microfilaires passées dans l'hémocèle (dans la colonne de gauche, les ♀ ayant ingéré plus de 15 microfilaires sont groupées par classes de plus en plus importantes ; dans la colonne du milieu, le nombre des microfilaires passées dans l'hémocèle est donné séparément pour chaque ♀ disséquée). Dans ce tableau, nous utilisons les dissections effectuées 9 h, 12 h et 24 h après le repas. Les chiffres en italique correspondent aux passages anormaux de microfilaires à gaine dans l'hémocèle

M. I.	M. P.	% M. P.
1	1-0-0	33,3
2	1-0-1-1-1-0	33,3
3	1-2-0-2-2-0-0	33,3
4	0-1-0-1	15
5	0-1-1	10
6	0-0	0
7	0-1-0	4,7
8	0-1-1	8,1
9	1	11,1
10	1-1-0	2
11-15	0-5-0-1-0	9,2
15-20	1-0-4-2-2-0	10,5
21-30	0-0-1-1-0-5-1-3-4-1-10-0	8,6
31-40	0-0-1-1-0-13	7,1
41-50	1-3-0-0-2-2	2,9
51-75	1-1-0-0-5-10-0-0	3,4
76-100	1-1-11-1-2	3,5
100-150	2-3-1-2-0-1-22	3,5
151-200	0-3-1-0-0-1-0-0-1-1	0,5
201-250	0-2	0,4
251-300	185	Cas anormal

FIG. 3. — *Onchocerca volvulus*, *Simulium damnosum*. Rapport numérique entre microfilaries ingérées et microfilaries passées dans l'hémocèle (dans la colonne de gauche, les ♀ ayant ingéré plus de 10 microfilaries sont groupées par classes de plus en plus importantes; dans la colonne du milieu, le nombre des microfilaries passées dans l'hémocèle est donné séparément pour chaque ♀ disséquée).

Dans ce tableau, nous utilisons les dissections effectuées 12 h après le repas

3) *O. volvulus*-*S. damnosum* (fig. 3).

Ici, le pourcentage de réussite n'est élevé (33 %) que pour d'infimes prises de microfilaries; au-delà de 3 microfilaries ingérées, ce pourcentage décroît rapidement, et pour les repas riches en microfilaries il ne dépasse pas 0,5 %.

Ainsi, pour ces 3 couples Filaire-vecteur, les résultats numériques montrent que la proportion des microfilaries qui passent dans l'hémocèle est élevée et constante quand le repas est pauvre en microfilaries, et qu'elle diminue au-delà d'un nombre critique de microfilaries ingérées, que nous appelons seuil de limitation. Ce seuil varie avec chaque ensemble Hôte-Filaire-vecteur étudié: il est aux environs de 3 microfilaries pour *O. volvulus*-*S. damnosum*, de 25 microfilaries pour *W. bancrofti*-*A. aegypti* et de 6-9 microfilaries pour *S. labiatopapillosa*-*A. aegypti*.

Selon nous, l'existence de ce seuil signifie que le donneur porte deux groupes de

microfilaires : — les unes seraient physiologiquement aptes à traverser la paroi stomacale du vecteur (microfilaires « + ») et formeraient des populations peu denses ; — les autres seraient physiologiquement inaptes à traverser la paroi stomacale (microfilaires « — ») et formeraient des populations plus denses.

Chapitre II

Remarques sur la distribution de fréquence des vecteurs en fonction du nombre de microfilaires ingérées ; coexistence de deux types de répartition de microfilaires chez le donneur.

Ces études de distribution sont effectuées chez les 3 couples Filaires-vecteurs présentant le phénomène de limitation, mais également, à titre de comparaison, chez *W. bancrofti*-*A. gambiae* A.

Les distributions de fréquence des ♀ en fonction du nombre des microfilaires ingérées sont représentées pour chaque couple Filaire-vecteur (fig. 4 à 7) ; les vecteurs

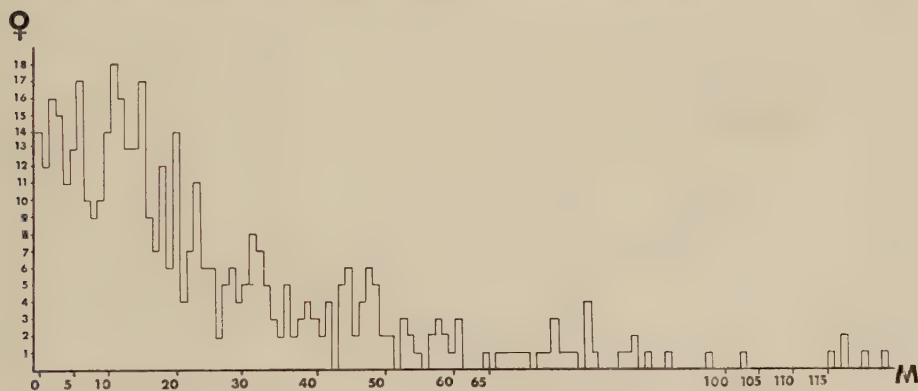


FIG. 4. — *Wuchereria bancrofti*, *Anopheles gambiae* A. Distribution de fréquence des ♀ en fonction des microfilaires ingérées (abscisses : nombre des microfilaires ; ordonnées : effectif des ♀). Les 4 prises suivantes de microfilaires ne sont pas représentées sur le graphique : 146 ; 154 ; 171 ; 175

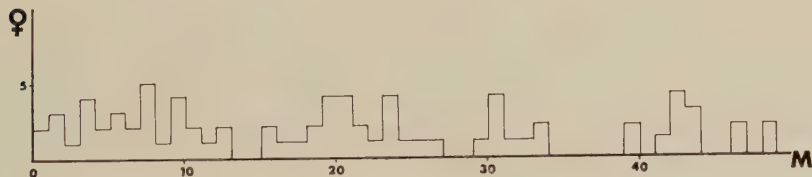


FIG. 5. — *Wuchereria bancrofti*, *Aedes aegypti*. Distribution de fréquence des ♀ en fonction du nombre des microfilaires ingérées (en abscisses, nombre des microfilaires ; en ordonnées, effectif des ♀) ; les 19 prises de microfilaires suivantes n'ont pas pu être placées sur l'histogramme : 62 ; 67 ; 69 ; 75 ; 77 ; 77 ; 81 ; 88 ; 96 ; 99 ; 104 ; 104 ; 106 ; 108 ; 116 ; 118 ; 120 ; 141 ; 227

sont groupés par classes ayant ingéré 0, 1, 2, 3, etc. microfilaries, sauf pour *O. volvulus-S. damnosum* où les prises de microfilaries sont groupées de 0 à 15, 16 à 30, etc. microfilaries. Chez *Wuchereria-Anopheles* (fig. 4), les prises de microfilaries varient de 0 à 175 microfilaries et le mode de la distribution (sommet de l'histogramme) est environ à 12. Chez *Wuchereria-Aedes* (fig. 5), les prises de microfilaries varient de 0 à 227 et le mode peut être situé approximativement à 7-9 microfilaries. Chez *Setaria-Aedes* (fig. 6), les prises de microfilaries varient de 0 à 756 et le mode est à 2-3. Chez *Oncho-*

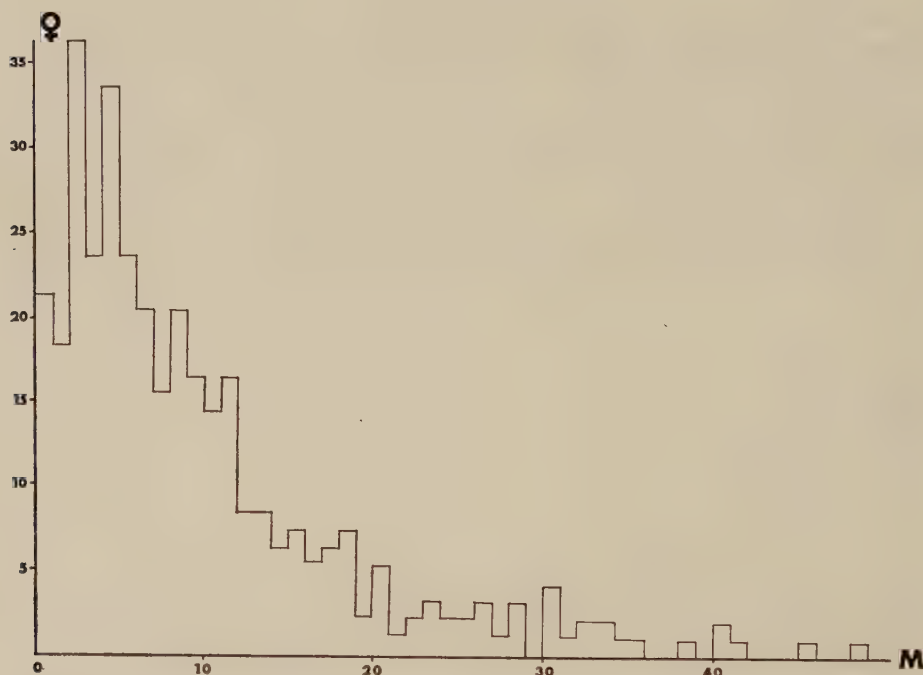


FIG. 6. — *Setaria labiatopapillosa*, *Aedes aegypti*. Distribution de fréquence des ♀ en fonction du nombre des microfilaries ingérées (abscisses : nombre des microfilaries ingérées ; ordonnées : effectif des ♀). Les 16 prises de microfilaries suivantes ne sont pas représentées sur le graphique : 50 ; 52 ; 53 (2 ♀) ; 55 ; 56 ; 58 ; 59 ; 73 ; 92 ; 101 ; 112 ; 115 ; 160 ; 269 ; 756

cerca-Simulium, la figure 7 montre que les prises de microfilaries varient de 0 à 840 (résultats obtenus avec l'Onchocerquien I ; cf. Philippon et Bain, sous presse) ; pour définir le véritable mode de la distribution de *Simulium*, il faut établir un deuxième histogramme dans lequel les prises de microfilaries ne sont pas groupées par classes (fig. 12) ; le mode réel paraît alors égal à 1.

Dans tous les cas, ces distributions sont très étalées et montrent ainsi que les prises de microfilaries, dans des conditions expérimentales identiques, varient dans des limites considérables ; ainsi une Simulie peut prendre 0 microfilaire ou un millier de microfilaries.

Or, si l'on estime que les microfilaires sont équivalentes à des unités réparties au hasard dans un milieu homogène où les vecteurs les prélèvent, les prises de microfilaires devraient être régies par la loi de Poisson et la distribution des vecteurs devrait correspondre à une courbe de Poisson.

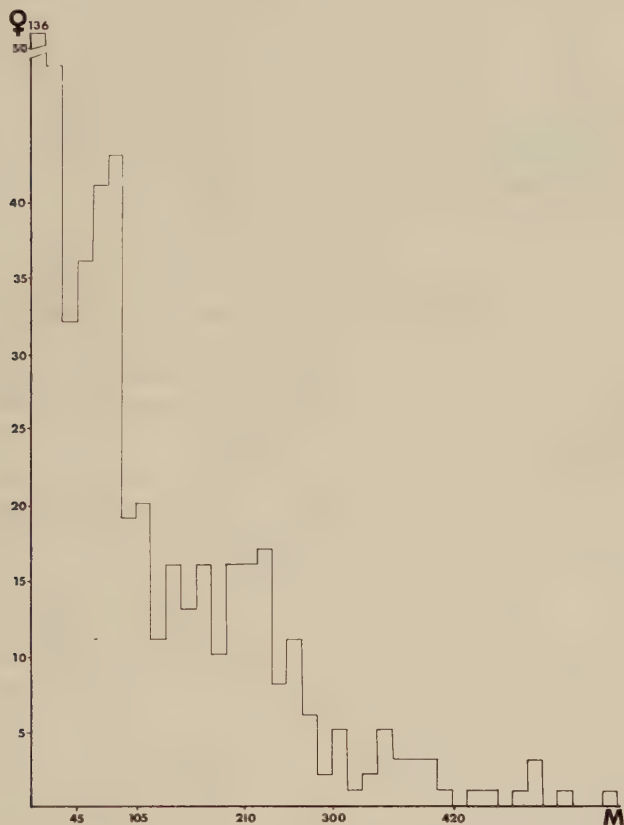


FIG. 7. — *Onchocerca volvulus*, *Simulium damnosum*. Distribution de fréquence des ♀ en fonction du nombre des microfilaires ingérées (abscisses : nombre des microfilaires ingérées groupées par classes de 15 ; ordonnées : effectif des ♀). Les 4 prises de microfilaires suivantes ne sont pas représentées sur le graphique : 600 ; 622 ; 800 ; 840

Sans tenter une analyse mathématique précise de ces distributions, nous voudrions montrer seulement que l'hypothèse de deux populations distinctes de microfilaires n'est pas incompatible avec les chiffres obtenus.

Pour représenter la courbe réelle de la distribution des ♀ en fonction du nombre des microfilaires ingérées, les effectifs des ♀ sont calculés en pourcentage de la popula-

tion totale. Pour construire la distribution théorique de Poisson nous choisissons dans les tables un paramètre de façon à ce que la courbe théorique se calque aussi bien que possible sur les premiers points de coordonnées de la courbe réelle. Deux cas sont alors à envisager :

1) la courbe théorique coïncide bien avec le début de la courbe réelle ; étant donné que cette courbe théorique est calculée pour une population de 100 ♀, ceci signifie qu'il n'y a pas de population de ♀ à distribution non poissonnienne, ou qu'elle est négligeable ;

2) la courbe théorique est parallèle au début de la courbe réelle et située au-dessus d'elle ; nous constatons qu'on peut passer de la première à la seconde en transformant toutes les ordonnées théoriques de façon à ce que les nouvelles ordonnées (ou ordonnées réelles) fassent avec les précédentes un rapport constant N

$$(N = \frac{\text{ordonnées réelles}}{\text{ordonnées théoriques}});$$

le rapport N est estimé directement par lecture du graphique. Cette opération n'est pas arbitraire ; elle signifie que la population qui a une distribution poissonnienne ne comprend pas la totalité des ♀ mais qu'il existe une population non poissonnienne importante ; elle implique également que le rapport de la population poissonnienne à la population totale est égal à N.

Les particularités de chacun des 4 couples sont les suivantes :

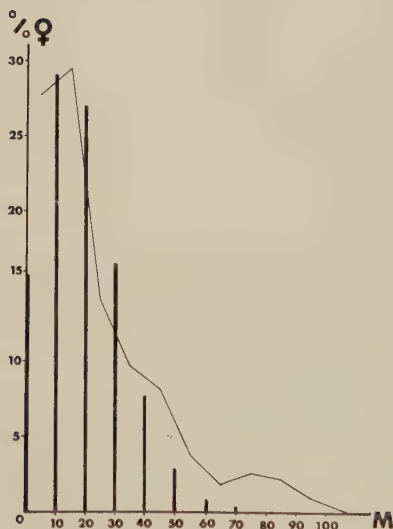


FIG. 8. — *Wuchereria bancrofti*, *Anopheles gambiae* A. En trait mince, courbe expérimentale de la distribution de fréquence des ♀ en fonction du nombre des microfilaries ingérées. En trait épais, distribution de Poisson calculée pour le paramètre 1,85. (Abscisses : nombre de microfilaries ingérées groupées par classes de 10 ; ordonnées : pourcentage des effectifs des ♀). Les quelques prises au-delà de 110 microfilaries ne sont pas représentées

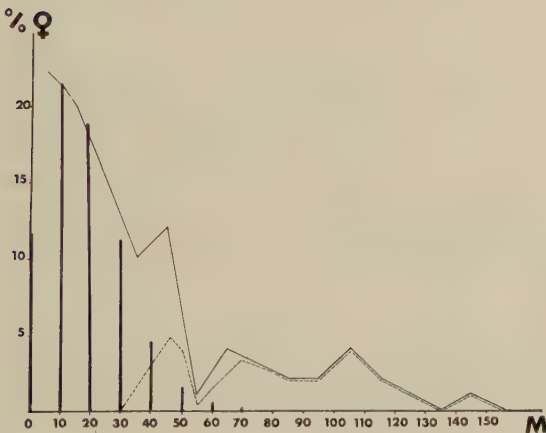
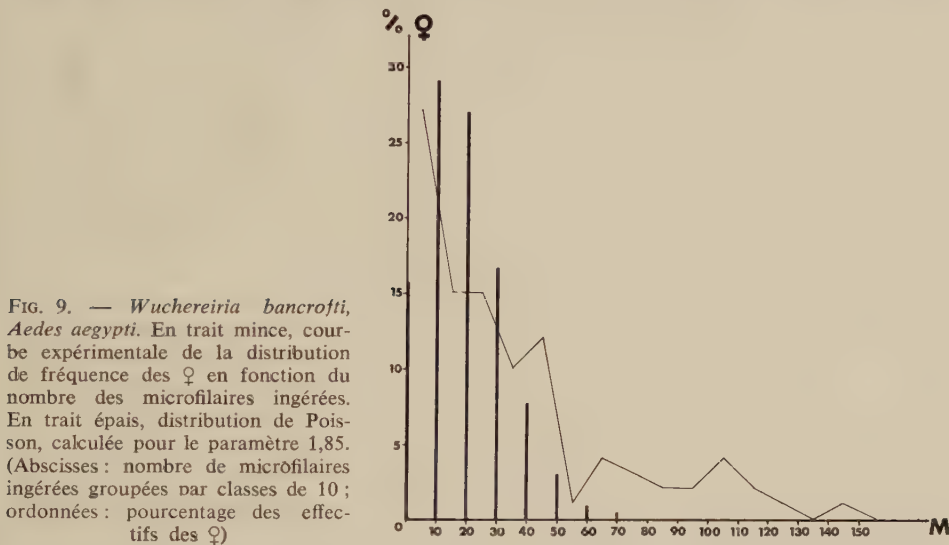
A) *Wuchereria-Anopheles* (fig. 8).

La population totale est de 457 ♀. Pour établir l'histogramme expérimental, ces microfilaries sont groupées par classe de 10 et l'effectif des ♀ dans chaque classe de

microfilaires, divisé par 457, fournit la fréquence de la classe. Une distribution de Poisson de paramètre 1,85 ajuste bien toute la partie gauche de la courbe expérimentale ; la partie résiduelle non poissonnienne, située à droite sur le graphique, est ici très faible ; le rapport de la population poissonnienne à la population totale est d'environ 10/11.

B) *Wuchereria-Aedes* (fig. 9).

La population totale est seulement de 100 ♀. Notre série statistique étant traitée comme précédemment, un paramètre de 1,85 reste celui qui permet d'ajuster au mieux



la courbe expérimentale. Ici les données sont numériquement insuffisantes car les premiers points de coordonnées sont irréguliers ; mais si l'on imagine, pour pallier cette difficulté liée au hasard, un premier chiffre un peu plus bas et le deuxième un peu plus élevé, il apparaît qu'il est nécessaire d'abaisser la courbe théorique d'environ 30 % pour que la courbe théorique corrigée et début de la courbe réelle coïncident approximativement. Ceci nous amène à concevoir une population résiduelle (= différence entre la surface délimitée par la courbe théorique et celle délimitée par la courbe réelle) égale à environ 30 % de la population totale. Cette population résiduelle peut être figurée : ses points de coordonnées sont obtenus en effectuant la différence entre ceux de la courbe réelle et ceux de la courbe théorique corrigée ; par rapport à l'axe des abscisses, cette population débiterait ainsi aux environs de 25-30 microfilaries, aurait un maximum aux environs de 40-45 microfilaries et chuterait ensuite de façon très progressive (fig. 10).

C) *Setaria-Aedes* (fig. 11).

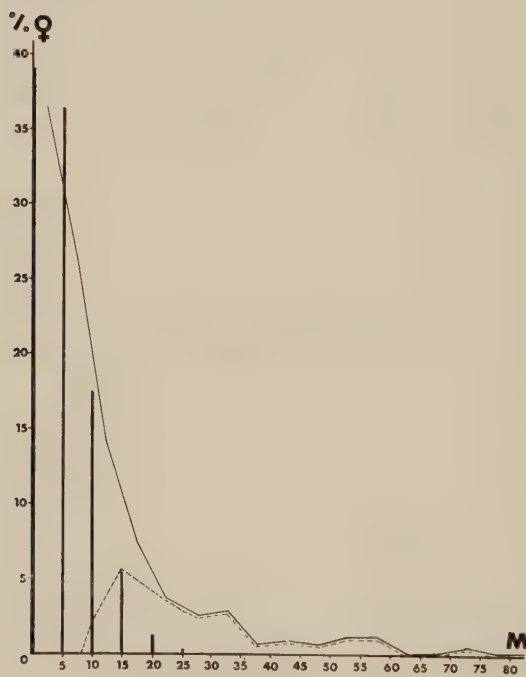


FIG. 11. — *Setaria labiatopapillosa*, *Aedes aegypti*. En trait mince, courbe expérimentale de la distribution des ♀ en fonction du nombre des microfilaries ingérées. En traits épais, distribution de Poisson pour le paramètre 0,94. En tirets, courbe de la population non poissonnienne obtenue par différence entre les ordonnées théoriques et les ordonnées réelles. (Abscisses : nombre de microfilaries ingérées groupées par classe de 5 ; ordonnées : pourcentages des effectifs des ♀). Les 7 prises de microfilaries comprises entre 92 et 756 microfilaries n'ont pas pu être représentées sur le graphique.

La population totale est de 356 ♀. Les microfilaries ingérées sont groupées par classe de 5. Une distribution ayant pour paramètre 0,94 paraît ajuster assez bien le début de la courbe expérimentale. La distribution résiduelle représente le 1/4 ou le 1/5 environ de l'aire totale de l'histogramme de la série expérimentale.

D) *Onchocerca-Simulium* (fig. 12).

La population totale est de 550 ♀. L'histogramme, obtenu en groupant les micro-filaires ingérées par 15 (fig. 7), montre que la plupart des *Simulies* ingèrent de 0 à 15 microfilaires. Il faut, pour préciser le sommet véritable de l'histogramme, mettre en abscisses les microfilaires par unités (fig. 11). Pour avoir une distribution de Poisson qui coïncide avec la courbe expérimentale, nous devons cette fois prendre un paramètre de 0,8 et une population de 60 environ.

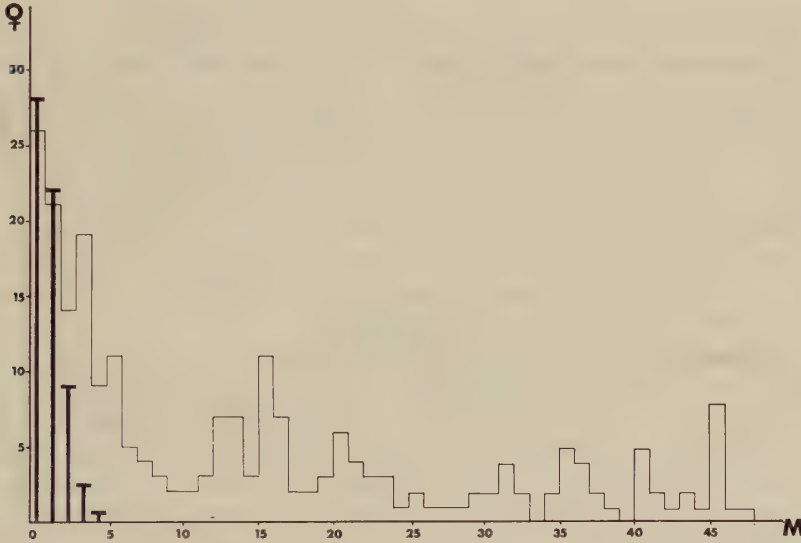


FIG. 12. — *Onchocerca volvulus*, *Simulium damnosum*. En trait mince, détail de la partie gauche de la fig. 7 représentant la distribution de fréquence des ♀ en fonction du nombre des microfilaires ingérées. En trait épais, distribution de Poisson, calculée pour le paramètre 0,80 et pour une population de 60. (Abscisses : nombre de microfilaires ingérées ; ordonnées : effectifs des ♀)

Contrairement aux exemples précédents, la partie gauche de la courbe, qui obéit à la distribution de Poisson, est très faible (1/9 environ) et 8/9 de la population forme la courbe « résiduelle » (1).

Ainsi, quel que soit le couple Filaire-vecteur étudié, l'ensemble des ♀ gorgées se répartit en deux groupes qui révèlent l'existence, chez l'hôte définitif, de deux modes de dispersion des microfilaires : une population homogène et peu dense, correspondant à la distribution « de Poisson » des ♀, et une population hétérogène et plus dense, correspondant à la fraction « non poissonnienne » des vecteurs. Ces deux ensembles de dis-

(1) Le choix de l'échelle de la fig. 12 ne permet pas de représenter toutes les prises de micro-filaires ; pour en avoir une vue complète, il faut se reporter à la fig 7.

tribution des ♀ sont schématisés fig. 13 ; l'aire de distribution poissonnienne et l'aire résiduelle se superposent sur la zone limitrophe.

Il est intéressant de constater que les deux vecteurs, *Aedes* et *Anopheles*, se gorgeant sur le même hôte wuchererien, ont une distribution poissonnienne identique (même paramètre égal à 1,85).

Chapitre III

Les vecteurs dont les prises de microfilaires sont comprises entre 0 et le seuil de limitation correspondent à ceux qui ont une distribution poissonnienne.

Nous avons précisé au paragraphe 1 les valeurs du seuil de limitation chez les 3 couples Filaires-vecteurs qui présentent le phénomène de limitation : il est de 25 microfilaires chez *Wuchereria-Aedes*, de 6-9 chez *Setaria-Aedes* et de 3 microfilaires chez *Onchocerca-Simulium*.

Si nous reportons respectivement ces chiffres sur l'axe des abscisses des fig. 10, 11 et 12, nous constatons qu'ils correspondent à la séparation entre la population des ♀ à distribution essentiellement poissonnienne et le reste de la population, comprenant l'aire de recouvrement et la distribution résiduelle.

Cette corrélation, retrouvée 3 fois, ne peut être due au hasard ; pour nous, elle signifie que la population des ♀ chez laquelle le pourcentage de réussite des microfilaires est élevé correspond à la population des ♀ qui a une distribution poissonnienne (fig. 13). Ainsi les microfilaires dispersées de façon homogène semblent correspondre aux microfilaires aptes à traverser la paroi stomacale (microfilaires « + »). Dans nos trois expériences, nous remarquons que ces microfilaires ont une concentration plus faible que celle des microfilaires « — », dispersées de façon hétérogène.

Chapitre IV

La possibilité, pour un même vecteur, d'ingérer des microfilaires « + » ou des microfilaires « — » pourrait s'expliquer par l'existence de deux modes de piqure.

Les travaux de Gordon et Lumsden (1939) sur les mécanismes de piqure des Moustiques ont montré qu'*Aedes aegypti*, gorgé sur Grenouille filarienne, pique dans les vaisseaux sanguins (« capillary feeding ») ou provoque une hémorragie localisée en lésant les capillaires (« pool feeding ») ; dans ce dernier cas, le nombre des microfilaires prélevées est beaucoup plus faible.

La dualité des mécanismes de piqure des vecteurs hématophages doit être un phénomène général : chez *Aedes aegypti*, par exemple, la fig. 9 sur la distribution des ♀ gorgées sur l'Homme wuchererien montre que les 3/4 des Moustiques font un type de repas sur milieu homogène et que le dernier quart de Moustiques fait un deuxième type

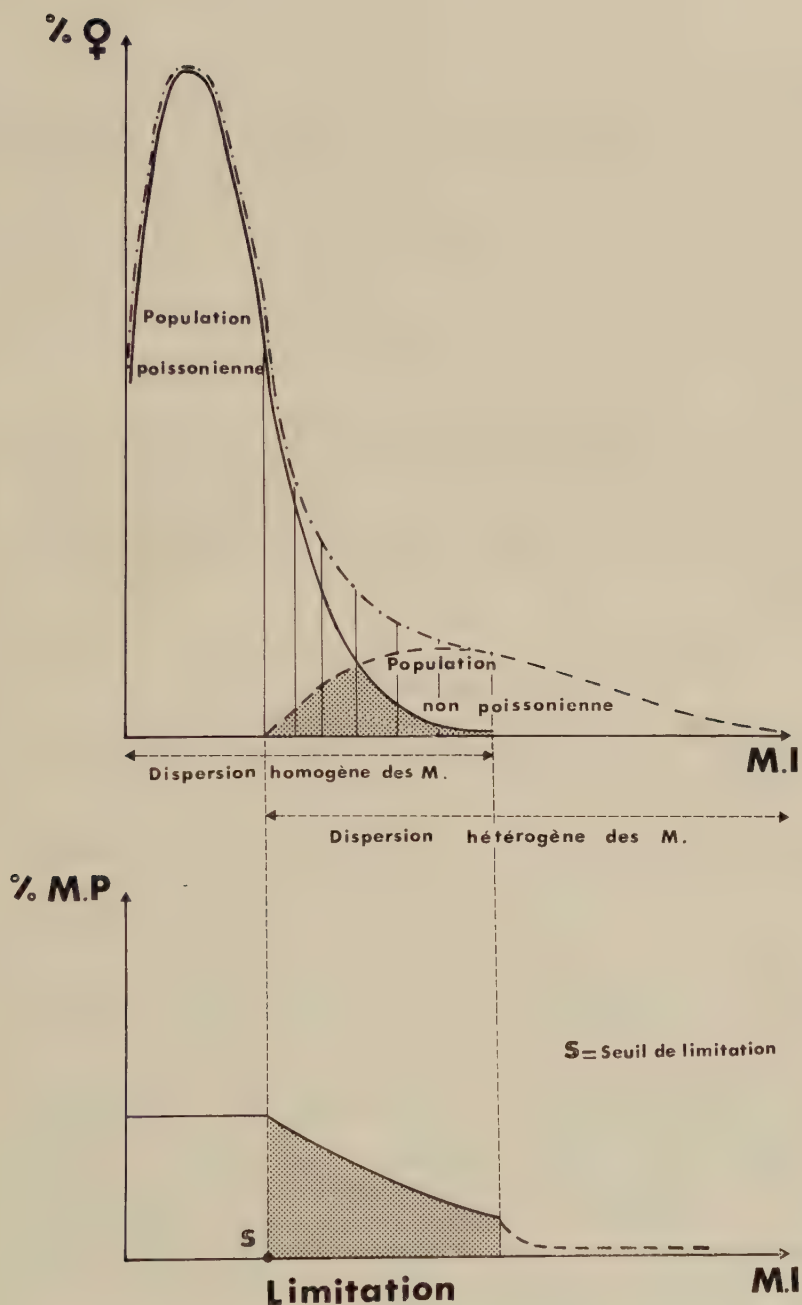


FIG. 13. — En haut : schéma représentant une courbe réelle (tirets et points) de distribution décomposée en une courbe de Poisson (trait continu) et une courbe non poissonnienne (tirets); en bas : schéma représentant la variation du pourcentage de réussite des microfilaires chez les couples présentant la limitation, et ses rapports avec les 2 modes de distribution des ♀ (M.I. = microfilaires ingérées; M.P. = microfilaires passées; s = seuil de limitation)

de repas sur milieu hétérogène. Nous remarquons que, sur la Vache filarienne (fig. 11), à peu près 1/4 également de la population d'*Aedes* se gorge sur le milieu hétérogène. Dans le cas de l'Anophèle (fig. 8), la quasi-totalité des ♀ (10/11^e) effectue le même type de piqure.

Le gorgement de la Simulie, tout en étant différent de celui des Moustiques, doit également pouvoir s'effectuer selon deux mécanismes.

Conclusion

Mesure du degré d'adaptation Filaire-vecteur.

Pour expliquer le phénomène de limitation, observé à trois reprises (couples *Wuchereria-Aedes*, *Setaria-Aedes* et *Onchocerca-Simulium*), nous avons posé comme hypothèse qu'il existe chez l'hôte vertébré deux populations de microfilaires, les unes physiologiquement aptes à traverser la paroi stomacale du vecteur, les autres physiologiquement inaptes à le faire, le vecteur prélevant les microfilaires dans l'une ou l'autre population.

Cette hypothèse semble être étayée par les faits que nous venons d'exposer :

1) il existe un seuil de limitation, c'est-à-dire un nombre critique de microfilaires ingérées : en-deçà de ce nombre, le pourcentage de réussite des microfilaires est élevé (microfilaires « + ») et, au-delà de ce nombre, le pourcentage de réussite devient très faible (microfilaires « — ») ;

2) les ♀ d'une même espèce de vecteur se répartissent en deux groupes, d'importance inégale et variable avec le vecteur ; un groupe qui prélève les microfilaires réparties de façon homogène (distribution poissonnienne) et un groupe qui prélève les microfilaires réparties de façon hétérogène (distribution non poissonnienne, résiduelle) ;

3) le groupe des vecteurs chez lequel le pourcentage de réussite des microfilaires est élevé correspond au groupe des vecteurs qui se gorgent sur la population homogène, c'est-à-dire que les microfilaires « + » correspondent aux microfilaires à répartition homogène ;

4) l'existence de deux modes de piqure chez les vecteurs est compatible avec le fait que les deux populations de microfilaires puissent être prélevées séparément.

Ainsi, selon notre conception, le pouvoir vecteur d'un hôte intermédiaire dépend, non seulement du nombre des microfilaires ingérées, mais également de l'état physiologique de ces microfilaires (1), lié à leur mode de dispersion. Si le vecteur ne prélève que les microfilaires aptes à traverser la paroi stomacale (cas de la quasi-totalité des *A. gambiae* avec *W. bancrofti*), son rendement est maximum ; un tel vecteur est bien adapté à la transmission de la Filare.

(1) Il n'est pas actuellement possible de préciser la nature de ces états physiologiques ; la sénilité ou l'immaturité pourraient être des causes de l'inaptitude des microfilaires à traverser la paroi stomacale ; nous pensons plutôt que cet état pourrait être réversible et se rapprocherait alors des phénomènes de périodicité des microfilaires.

L'étude de la distribution de fréquence des vecteurs en fonction du nombre des microfilaires ingérées apporte un moyen simple de mesurer le degré d'adaptation des couples Filaires-vecteurs naturels. Chez le vecteur adapté, ne prélevant que les « microfilaires + » (population homogène), la distribution des ♀ est poissonnienne. Le couple *Dipetalonema perstans*-*Culicoides austeni* apparaît, d'après les chiffres fournis par Nicholas et Kershaw (1954), comme un exemple de bonne adaptation. Au contraire, quand le vecteur prélève surtout les « microfilaires — » (population hétérogène), la majorité des ♀ a une distribution résiduelle non poissonnienne ; c'est le cas du couple *Onchocerca Simulium*, en zone de savane guinéenne, dans l'un des foyers étudiés par Le Berre (1966).

Mais ce même couple, en forêt camerounaise, semble se comporter très différemment (chiffres fournis par Duke et Lewis, 1964) : le rendement des microfilaires ingérées est plus élevé qu'en Haute-Volta (Philippon et Bain, sous presse) et, apparemment, il n'y a pas de seuil de limitation.

L'adaptation de la Filaire au vecteur qui est le résultat d'une suite de sélections, atteint donc des degrés variables pour un même couple selon les localisations géographiques.

Bibliographie

- BAIN (O.) et BRENGUES (J.), sous presse. — Transmission de la Wucheriose et de la Setariose bovine : étude histologique de la traversée de la paroi stomacale d'*Anopheles gambiae* A et d'*Aedes aegypti* par les microfilaires. *Ann. Parasitol.*
- BRENGUES (J.) et BAIN (O.), sous presse. — Passages des microfilaires de l'estomac vers l'hémocèle du vecteur dans les couples *Wuchereria bancrofti* - *Anopheles gambiae* A, *W. bancrofti* - *Aedes aegypti* et *Setaria labiatopapillosa* - *A. aegypti*. *Cah. O.R.S.T.O.M., série Ent.*
- DUKE (B. O. L.) et LEWIS (D. J.), 1964. — Studies on factors influencing the transmission of Onchocerciasis. III. Observations on the effect of the peritrophic membrane in limiting the development of *Onchocerca volvulus* microfilariae in *Simulium damnosum*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 58, 83-88.
- GORDON (R. M.) et LUMSDEN (W. H. R.), 1939. — A study of the behaviour of the mouth parts of mosquitoes when taking up blood from living tissue ; together with some observations of the ingestion of microfilariae. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 33, 259-278.
- LE BERRE (R.), 1966. — Contribution à l'étude biologique et écologique de *Simulium damnosum*, Theobald 1903 (Diptera, Simuliidae). *Mémoire O.R.S.T.O.M.*, 17, 204 pp.
- NICHOLAS (W.-Z.) et KERSHAW (W. E.), 1954. — Studies on the intake of microfilariae by their insect vectors, their survival, and their effect on the survival of vectors III. The intake of the microfilariae of *Acanthocheilonema perstans* by *Culicoides austeni* and *C. grahmi*. *Ann. trop. Med. Parasit.*, 48, 200-206.
- PHILIPPON (B.) et BAIN (O.), sous presse. — Transmission de l'Onchocercose humaine en zone de Savane d'Afrique Occidentale. Passage des microfilaires d'*Onchocerca volvulus* Leuck. dans l'hémocèle de la femelle de *Simulium damnosum* Th. *Cah. O.R.S.T.O.M., série Ent.*

Recherches sur la morphogénèse des Filaires chez l'hôte intermédiaire

par O. BAIN (1)

Laboratoire de Zoologie (Vers) associé au C.N.R.S. (P^r A.-G. CHABAUD),
Muséum National d'Histoire Naturelle, 57, rue Cuvier, F. 75005 Paris,
Centre Muraz de Bobo-Dioulasso, Haute-Volta

Résumé

Description complète ou fragmentaire de 4 cycles larvaires de *Filaires vivipares* (*Dipetalonema viteae*, *D. dracunculoides*, *Wuchereria bancrofti*, *Onchocerca gutturosa*) et de deux Spirurides (*Spirura guyanensis*, *Draschia megastoma*). Ces observations, jointes à nos précédentes études, permettent d'exposer les grandes lignes de l'organogénèse larvaire des Filaires chez leur hôte intermédiaire :

— Nous confirmons que la cellule R₁, également présente chez la microfilaire et chez la larve éclosue du Spiruride, est l'initiale mésenchymateuse et que les cellules sous-cuticulaires de ces larves, bien que contractiles, sont ectodermiques.

— Le rectum est constitué par les cellules R₂, R₃ et R₄ (futurs glandes rectales) et par un tube rectal de quelques cellules.

— Un organite binucléé, le prérectum, fait la jonction entre l'intestin et le rectum.

— Les initiales intestinales, généralement au nombre de cinq, apparaissent autour du corps interne de la microfilaire, qui est l'équivalent de la substance contenue dans le sac intestinal de la larve de Spiruride.

— La « capsule buccale » se constitue au début du deuxième stade larvaire ; elle comprend une invagination buccale et un tube cuticularisé, probablement sécrété par deux grosses cellules ; ce tube est l'équivalent du pharynx des Spirurides.

— L'ébauche génitale est initialement constituée par quatre cellules ; elles se divisent durant le deuxième stade.

(1) Ces recherches ont bénéficié du soutien financier de l'Organisation Mondiale de la Santé.

Summary

Complete or fragmentary descriptions of 4 larval cycles from viviparous *Filaria* (*Dipetalonema viteae*, *D. dracunculoides*, *Wuchereria bancrofti*, *Onchocerca gutturosa*) and from 2 Spirurids (*Spirura guyanensis*, *Draschia megastoma*). These observations and others from previous work enable us to describe the main lines of the larval organogenesis of *Filaria* in their intermediate host.

— Confirmation is given that the R_1 cell, present in the microfilaria as well as in the Spirurid's hatched larva, is the initial of the mesenchyma, and that the subcuticular cells of these larvae, although contractile, are ectodermic.

— The rectum is formed by the cells R_2 , R_3 , R_4 (originating the rectal glands) and by the few cells of the rectal tube.

— The binucleate prerectum links the intestine with the rectum.

— The initials of the intestine (usually 5 cells) appear, around the internal body of the microfilaria, which is the equivalent of the substance contained in the intestinal bag of the Spirurid larva.

— The buccal capsule appears at the beginning of the 2nd larval stage; it is formed by a buccal invagination and a cuticularized tube, probably secreted by two large cells; this tube is comparable to the Spirurid's pharynx.

— The genital primordium is at first formed by 4 cells, which divide during the 2nd stage.

Sommaire

INTRODUCTION.

I. TECHNIQUES D'ÉTUDE.

II. ÉTUDES DESCRIPTIVES.

Spirura guyanensis Ortlepp, 1924.

Draschia megastoma (Rud., 1819).

Dipetalonema viteae (Krepkogorskaya, 1933).

Dipetalonema dracunculoides (Cobbold, 1870).

Wuchereria bancrofti (Cobbold, 1877).

Onchocerca gutturosa Neumann, 1910.

Rectifications morphologiques : *Foleyella candezei* Fraipont, 1882 ; *Onchocerca volvulus* (Leuckart, 1893).

III. CONCLUSIONS.

- 1) La microfilaire.
 - A. Anatomie d'une microfilaire.
 - B. Analogies entre l'anatomie d'une microfilaire et celle d'une larve de Filaire ovipare ou de Spiruride.
- 2) L'organogénèse.
 - A. Formation du rectum.
 - B. Le prérectum.
 - C. Formation de l'intestin.
 - D. Formation de l'œsophage.
 - E. Transformation de la région céphalique :
 - a) Morphogénèse du pharynx chez les Spirurides.
 - b) Morphogénèse de la capsule buccale chez les Filaires.
 - c) Homologie entre le pharynx des Spirurides et la capsule buccale des Filaires.
 - F. Formation de l'ébauche génitale.
 - G. Appareil excréteur.
 - H. Système nerveux et appareil sensoriel.

INTRODUCTION.

Dans cet article, nous nous proposons d'exposer les grandes lignes de l'organogénèse larvaire des Filaires chez leur hôte intermédiaire et d'en dégager la signification de la microfilaire.

Ces conclusions sont le résultat de l'étude de dix cycles de Filaires, que nous avons publiés précédemment (Bain, 1969 *a, b, c*, 1970, *a, c* ; Bain et Vassiliades, 1969) ou que nous décrivons ici ; nous y ajoutons l'étude du cycle de deux Spirurides, qui a permis de clarifier certains points de la morphogénèse des Filaires.

Le plan que nous adoptons comprend : 1) un bref exposé des techniques d'étude ; 2) la description, complète ou fragmentaire, de six cycles larvaires, suivie de quelques rectifications de la morphologie larvaire chez *Foleyella candezei* et *Onchocerca volvulus*, 3) les conclusions d'ensemble sur la morphogénèse des Filaires.

I. — TECHNIQUES D'ETUDE.

1) LES MICROFILAIRES.

Elles sont principalement étudiées à frais, à l'aide d'un colorant vital, l'Azur II dilué au 1/5000^e dans du Ringer ; des gouttes épaisses sont également préparées et

colorées au Giemsa. Les mesures de longueur et de largeur sont effectuées à frais sur des microfilaires immobilisées en extension par la chaleur ; les autres mensurations sont faites sur les microfilaires colorées à l'Azur II.

2) LES LARVES.

Elles sont très fragiles et éclatent rapidement dans le Ringer. Nous avons donc utilisé un milieu complexe, dont la formule nous a été fournie par le professeur Vago (2) ; actuellement, nous avons remplacé ce milieu par du Ringer additionné de glucose (4 %) ; nous obtenons ainsi une survie suffisamment longue des larves pour pouvoir les observer en parfait état.

Les stades infestants sont mesurés après immobilisation en extension par la chaleur. Des vues apicales sont effectuées chez des stades II et des formes infestantes après fixation au formol à 7 %.

II. — ETUDES DESCRIPTIVES.

Spirura guyanensis Ortlepp, 1924.

Le cycle de *Spirura guyanensis* a été étudié dans notre laboratoire par Quentin (sous-presse). Nous avons suivi le début du développement de ce Spiruride afin de comparer son onogénèse avec celle d'une Filaire.

Matériel.

Un *Caluromys philander* (136 HA), provenant de la région de Cayenne en Guyane, meurt au laboratoire ; à l'autopsie de nombreux spécimens ♂ et ♀ de *S. guyanensis* sont recueillis dans l'œsophage.

Les œufs embryonnés des femelles sont récoltés pour infester par voie orale des *Locusta migratoria*. Les larves se développent dans la cavité générale des Criquets.

(2) Milieu Moustique — Fraction minérale :

Na H ₂ PO ₄	120 mg/100 ml
K Cl	300 »
Ca Cl ₂ 2 H ₂ O	100 »
Mg Cl ₂ 6 H ₂ O	300 »
Mg SO ₄ 7 H ₂ O	400 »
K O H	(pour régler pH)
Glucose	2 500 »
ou	
Sucrose	2 668 »
Fructose	40 »
Glucose	70 »
pH	6,4
Point cryoscopique	0,52° C

Dimensions.

Larve à l'éclosion : corps long de 280 μ et large de 13 μ ; râpe cuticulaire de 16 μ de haut, pore excréteur à 105 μ de l'apex ; jonction œsophage-intestin à 150 μ de l'apex ; queue longue de 47 μ .

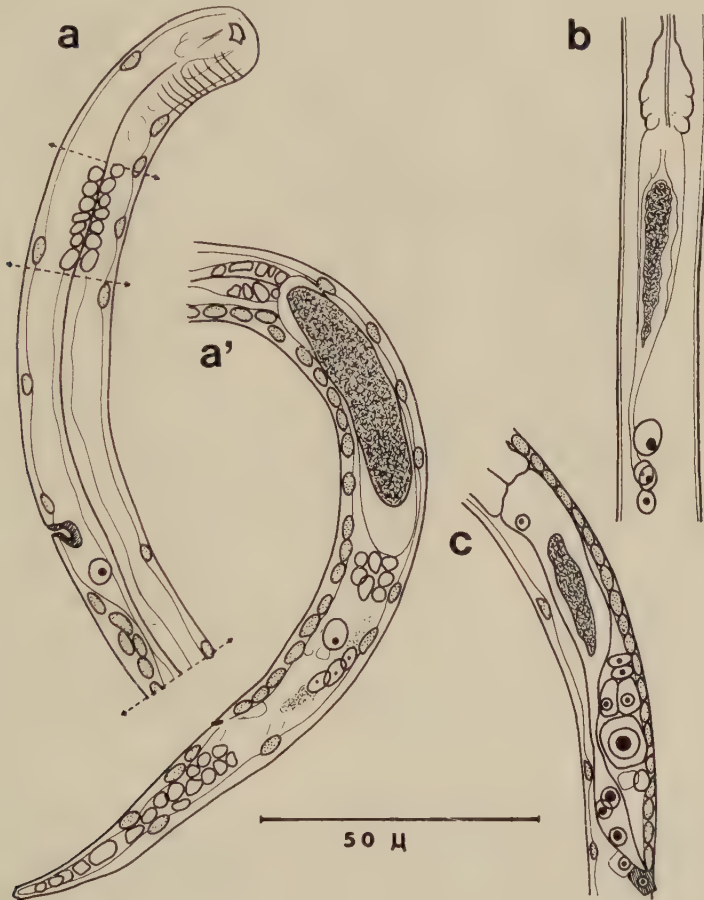


FIG. 1. — *Spirura guyanensis*. — A et A' : larve à l'éclosion (dans la région antérieure, les noyaux ne sont pas tous représentés, sauf entre les 2 traits transversaux). — B et C : région moyenne de 2 larves de 48 h, montrant l'évolution de l'intestin et des cellules R, et l'emplacement des 4 initiales génitales

Larve de 5 jours : corps long de 380 μ et large de 32 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 93 et 110 μ de l'apex ; œsophage long de 177 μ ; intestin long de 120 μ ; queue longue de 49 μ .

Etude morphologique du début du développement larvaire.

Les phénomènes les plus importants de la morphogénèse se déroulent dans la moitié postérieure de la larve ; aussi ne représentons-nous généralement que cette région du corps sur les figures.



FIG. 2. — *Spirura guyanensis*. — A et B : larves âgées de 3 ou 4 jours : région moyenne du corps montrant les divisions de la cellule R1 (A : R1 $\times$ 2 ; B : R1 $\times$ 4). — C : larve de 5 jours ; les cellules filles de R1 ont migré à la périphérie du corps (2 sont représentées) ; les cordes ectodermiques ne sont pas figurées ; l'ébauche génitale a une structure syncytiale

LARVE A L'ÉCLOSION (fig. 1 A et A').

Elle est robuste ; la tête porte une large pièce cuticularisée (crochet) sur le flanc gauche ; une râpe formée par une dizaine de rangées transversales de pointes orne l'apex ; elle s'interrompt dans le plan du crochet (fig. 1 A). La cuticule est doublée par une couche de noyaux ovoïdes, plus rapprochés sur la face ventrale. L'organisation interne est assez avancée : anneau nerveux visible ; pore excréteur très cuticularisé et

noyau excréteur plus postérieur ; l'œsophage est constitué par des noyaux qui entourent l'axe œsophagien cuticulaire ; le groupe de noyaux le plus postérieur forme un bulbe ; la région antérieure de l'œsophage reste imprécise. En arrière de l'œsophage, la région centrale de la larve est occupée par une énorme masse anhyste réfringente, le corps interne, qui est enveloppé dans le sac intestinal à parois très minces. Entre cette masse et le pore anal s'étagent quatre noyaux rectaux vésiculeux à nucléole punctiforme : un gros noyau antérieur ventral (R_1) et trois noyaux plus petits, dorsaux et postérieurs, disposés en file (R_2 , R_3 , R_4) ; ces trois noyaux sont enveloppés dans une frange cytoplasmique qui les relie au pore anal. La queue est entièrement nucléée et porte trois pointes, dont une terminale.

DÉVELOPPEMENT DU 1^{er} STADE PENDANT LES CINQ PREMIERS JOURS.

Chez les larves de 48 heures, le corps interne s'amenuise tandis que la paroi du sac intestinal s'épaissit. Celui-ci est relié aux noyaux R_2 à R_4 par un cordon cytoplasmique très étroit, dorsal par rapport au noyau R_1 (fig. 1 b). Chez d'autres larves le rectum est clairement dessiné et contient les trois cellules R_2 à R_4 . La cellule R_1 s'agrandit. Quatre autres cellules (deux petites antérieures et deux plus grosses postérieures) s'individualisent en avant de R_1 (fig. 1 c) ; ce sont les initiales génitales.

Chez des larves obtenues le troisième et le quatrième jours, la paroi intestinale est épaisse ; ses noyaux sont bien visibles ; certains sont en division ; l'isthme qui relie l'intestin au rectum contient un ou deux noyaux qui constituent le prérectum. La cellule R_1 est très grande ; son noyau s'est divisé une première puis une deuxième fois, mais la division cytoplasmique ne s'est pas faite. En avant de R_1 , les cellules génitales sont bien visibles (fig. 2 A et B).

Chez des larves plus âgées (5^e jour) on retrouve quatre grosses cellules de même taille que R_1 qui sont disposées sous le tégument dans les quatre axes latéro-ventraux et latéro-dorsaux, c'est-à-dire dans les axes des futurs champs musculaires ; des files longitudinales de petits noyaux sous-cuticulaires séparent ces quatre cellules et sont situées dans les axes latéraux, ventral et dorsal (fig. 2 C).

Conclusion.

Nous pouvons retenir de cette étude que l'organisation d'une larve de *Spirura* est identique à celle d'une microfilaire : on retrouve la cellule R_1 , initiale du mésenchyme (Bain, 1970 b), et les trois cellules rectales ; en outre, ce Spiruride démontre clairement que le corps interne est une volumineuse inclusion intestinale.

Draschia megastoma (Rud., 1819).

Le cycle de *Draschia megastoma* a été étudié par Roubaud et Descazeaux en 1921. Nous en avons repris l'étude pour préciser l'organogenèse larvaire de cet Habronematidae et la comparer à celle des Filaires.

Matériel.

Draschia megastoma est recueilli dans l'estomac des chevaux, aux Abattoirs de Vaugirard (3).

Les ♀ sont disséquées ; les œufs embryonnés libérés sont recueillis à l'aide d'un pinceau humecté d'urine de lapin ; le fond et les parois d'un petit bocal contenant des larves de *Musca domestica* sont badigeonnés d'œufs ; l'humidité est maintenue par l'adjonction de gouttes d'urine de lapin.

Allure du développement.

Les larves se développent dans les tubes de Malpighi. A 25°, les mues I et II s'effectuent respectivement vers le 12° et le 15° jour ; les premières formes infestantes apparaissent dès le 15° jour. Les larves du premier stade se libèrent facilement ; au deuxième stade elles sont enroulées sur la face dorsale dans d'épaisses capsules ; les formes infestantes sont libres et mobiles.

Croissance et dimensions.

La larve épaissit rapidement, mais ne s'allonge presque pas jusqu'au 8° jour ; elle est incurvée ventralement. La croissance en longueur est très importante au deuxième stade et pendant la maturation de la forme infestante.

Embryon : corps long de 112 μ et large de 7 μ (au niveau du pore excréteur) ; anneau nerveux, pore excréteur, cellule excrétrice et corps interne situés respectivement à 33 μ , 47 μ , 57 μ et 80 μ de l'extrémité antérieure ; queue longue de 15 μ .

Stade I : larve de huit jours : corps long de 155 μ et large de 22 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 42 μ et 52 μ de l'apex ; œsophage large de 70 μ débutant à 22 μ de l'apex ; intestin (+ caecum) long de 55 μ ; queue longue de 22 μ .

Mue I : corps long de 315 μ et large de 50 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 48 et 70 μ de l'apex ; œsophage et intestin longs respectivement de 110 μ et 130 μ ; ébauche génitale à 180 μ de l'apex ; queue longue de 30 μ .

Mue II : larve de 14 jours au début de la mue II : corps long de 1.560 μ et large de 90 μ ; pharynx, œsophage musculaire et œsophage glandulaire longs respectivement de 18, 95 et 145 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 120 et 160 μ de l'apex, rectum long de 80 μ , queue longue de 85 μ .

Forme infestante : chez un spécimen de 2.280 μ de long et large de 80 μ , chambre buccale antérieure profonde de 8 μ , pharynx long de 65 μ , œsophage musculaire et œsophage glandulaire longs respectivement de 100 et 450 μ ; anneau nerveux et pore excréteur situés respectivement à 155 μ et 215 μ de l'apex ; ébauche génitale à 390 μ en avant de la jonction œsophage-intestin ; queue longue de 105 μ .

(3) Nous exprimons notre vive reconnaissance à M. le Docteur Rigoulet qui nous a fourni le matériel.

Etude morphologique.

EMBRYON (fig. 3).

Embryon trapu ; queue à extrémité obtuse entièrement nucléée ; armature céphalique comprenant sur le flanc gauche deux petites rangées symétriques de cinq rides cuticulaires (chaque ride descend obliquement vers les axes médians) et un crochet subterminal à base en trident, et sur le flanc droit une file latérale de trois pointes triangulaires ; quand le crochet est rétracté, son extrémité effilée vient s'intercaler entre

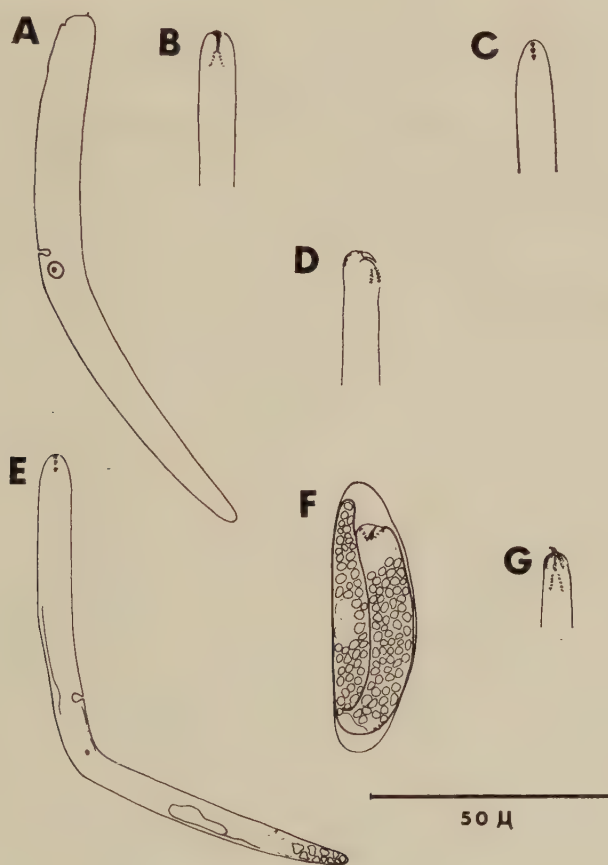


FIG. 3. — *Draschia megastoma*, œuf embryonné et larve à l'éclosion. — A : aspect sans coloration vitale. — B : région apicale, flanc gauche. — C : *idem*, flanc droit. — D : *idem*, vue médiane. — E : larve éclos, à l'Azur II. — F : œuf embryonné. — G : région céphalique montrant la base du crochet en trident

les deux rangées de rides gauches, et les pointes triangulaires droites remontent au contact de sa base (fig. 3 B, C, D, G).

Aucune cellule ne se colore électivement à l'Azur II, mais ce colorant crée un fond uniforme qui facilite les observations : anneau nerveux parfois visible, pore excréteur et noyau excréteur reliés par une plage anucléée ventrale ; pore anal souvent indiscernable ; une ou deux plages réfringentes (corps interne) situées à mi-distance entre le pore anal et le pore excréteur ; colonne nucléaire plus épaisse dans la région antérieure ; noyaux de la colonne assez anguleux.

PREMIER STADE (fig. 4, 5, 6).

Ce stade comprend une longue phase de mise en place des principales ébauches des organes, qui dure neuf à dix jours, puis une courte phase de croissance.

1^{re} phase : Les différentes étapes du développement se suivent aisément sur les figures que nous décrivons brièvement.

Du premier au cinquième jour les embryons ne changent guère de forme et le développement ne se manifeste que par l'apparition de structures nucléaires : développement de la cellule excrétrice et apparition des quatre noyaux rectaux en avant du pore anal : un gros noyau antérieur (R_1), deux petits noyaux rapprochés gauche et droit (R_2 et R_3) et un petit noyau situé dorsalement au pore anal (R_4) (fig. 4 A) ; les noyaux de la colonne nucléaire deviennent plus nets et parmi eux, quelques noyaux à nucléoles plus réfringents apparaissent en avant de R_1 (fig. 4 B) ; ceux-ci deviennent plus nombreux, et les plus antérieurs sont situés près de la pointe de la cellule excrétrice ; une zone réfringente anucléée en forme de V horizontal et dorsal, se dessine souvent à mi-distance entre R_1 et la cellule excrétrice ; un bouchon cuticulaire se forme en arrière du pore anal (fig. 4 C).

Ensuite, la larve épaissit fortement dans la région postérieure. Le noyau R_1 se divise en deux noyaux presque axiaux ; R_2 à R_4 se regroupent en avant du bouchon anal ; les noyaux situés en avant de R_1 deviennent volumineux ; plusieurs d'entre eux ont une position très dorsale ; un axe cuticulaire apparaît dans la moitié antérieure du corps ; il est dorsal par rapport à la cellule excrétrice et ventral par rapport aux gros noyaux ; un massif de petits noyaux ventraux avoisine son extrémité distale ; les noyaux tégumentaires commencent à être visibles même dans la région antérieure de la larve ; ils sont fréquemment groupés par deux (fig. 4 D). Par la suite, les deux cellules filles de R_1 se divisent à nouveau et donnent deux noyaux latéro-ventraux et deux noyaux latéro-dorsaux, séparés par quatre files longitudinales de petits noyaux plus superficiels ; le bouchon anal est entouré par une paroi épaisse, principalement constituée par R_2 et R_3 , latéraux, et R_4 , dorsal et un peu plus postérieur ; les gros noyaux médio-dorsaux sont entourés par un cytoplasme piqué qui remonte un peu en avant de l'extrémité postérieure de l'axe cuticulaire ; la région ventrale est constituée par de nombreux petits noyaux serrés (fig. 4 E).

Le cinquième jour, la larve est presque organisée : les gros noyaux médio-dorsaux et leur cytoplasme granuleux forment un intestin plein d'une douzaine de cellules environ, avec une sorte de caecum dorsal ; l'œsophage s'est formé autour de l'axe cuticulaire dans la région postérieure ; il est à peine ébauché sur les vingt premiers μ en avant de l'anneau nerveux ; il est uni à l'intestin par une ébauche valvulaire ventrale, de quatre (?) petits noyaux ; un massif de quelques noyaux situés à mi-hauteur de l'intestin et ventralement

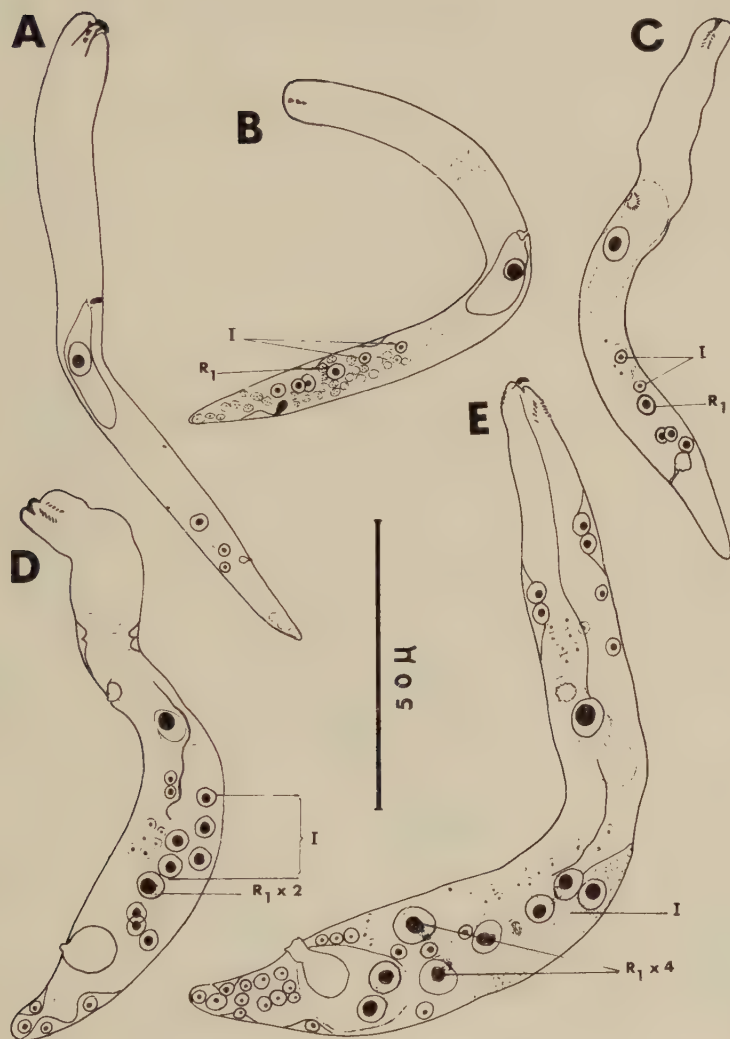


FIG. 4. — *Drascha megastoma*. — A : larve de 2 jours, apparition des noyaux R. — B et C : *idem*, mais les premiers noyaux sont visibles. — D : larve de 3 jours ; R1 se divise une première fois. — E : larve de 4 jours ; R1 a donné 4 cellules filles périphériques ; la file de 3 noyaux située entre les 2 cellules filles du flanc droit représente la corde latérale ectodermique

représente probablement l'ébauche génitale ; les cellules ganglionnaires s'étendent de l'anneau nerveux à la cellule excrétrice ; le bouchon anal est limité dans sa partie distale par les cellules R_2 à R_4 et entouré par un court tube cellulaire dans sa partie proximale (fig. 5 A).



FIG. 5. — *Draschia megastoma* : larve de 5 jours

2^e phase : Le rectum et l'intestin deviennent volumineux ; l'œsophage est renflé à ses deux extrémités, riches en noyaux, qui sont reliées par une portion étroite pauvre en noyaux ; l'œsophage n'arrive pas jusqu'à l'apex (fig. 6 A). Plus tard, un bourgeon œsophagien terminal s'organise autour de l'axe œsophagien (fig. 6 B), qui se soudera finalement à l'œsophage préexistant. Durant cette période, l'ébauche valvulaire a fini par se confondre avec l'œsophage ; le caecum intestinal a régressé ; intestin et œsophage se sont placés

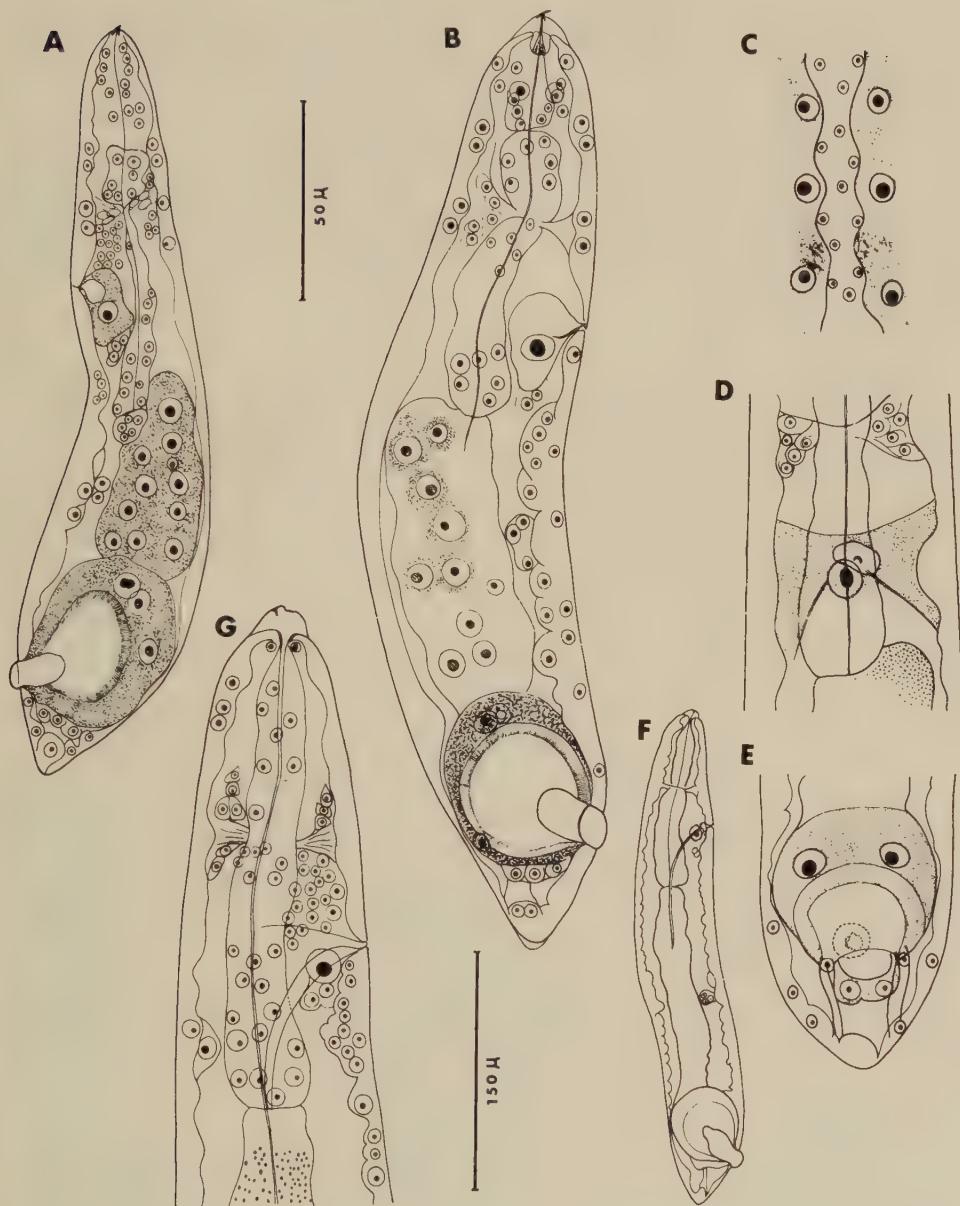


FIG. 6. — *Draschia megastoma*. — A : larve de 8 jours. — B : larve de 12 jours au début de la mue I. — C : *idem*, noyaux tégumentaires. — D : *idem*, région excrétrice en vue ventrale. — E : *idem*, région rectale en vue ventrale. — F et G : larve de 12 jours en mue I un peu plus avancée. — G : détail de la région antérieure montrant l'invagination buccale

dans le même axe médian. A ce stade la cuticule montre des stries transversales, interrompues au niveau des axes latéraux (fig. 7 H) et le tégument est formé par deux types de cellules : des cellules à noyaux très volumineux dans les axes submédiants et trois files de petits noyaux dans les régions axiales (fig. 6 C).

Quand l'exuviation débute (fig. 6 F), le dernier bourgeon œsophagien est encore distinct du reste de l'œsophage ; quand la mue est plus avancée, l'œsophage arrive au contact d'une courte invagination cuticulaire buccale ; deux gros noyaux, l'un ventral et l'autre dorsal, sont de part et d'autre de l'œsophage antérieur (fig. 6 G) ; le bouchon cuticulaire anal est décollé des trois grosses cellules rectales ; la face interne de celles-ci a une large bordure striée (fig. 6 E).

DEUXIÈME STADE (fig. 7).

Les cellules intestinales et les cellules œsophagiennes situées en arrière de l'anneau nerveux se multiplient abondamment (fig. 7 B). L'œsophage comprend deux parties : une région antérieure mince, pauvre en noyaux (œsophage musculaire) et une région postérieure large, très longue et dense en noyaux (œsophage glandulaire) (fig. 7 I). A la fin du stade II, l'intestin se creuse d'arrière en avant ; le creusement s'accompagne de la formation de déchets souvent disposés en files plus ou moins spiralées ; les deux cellules prérectales ferment le passage entre le rectum et la lumière intestinale (fig. I' et I'').

En plus de ces modifications, il se forme en avant de l'œsophage un tube cuticulaire de section triangulaire qui se termine au contact de l'invagination buccale. Ce tube est très court et peu cuticularisé au début du stade II (fig. 7 A et B), puis il s'allonge progressivement et forme le pharynx (fig. 7 E et I). Chez les larves observées à frais, ce tube est bordé dans la région antérieure par des stries (ou des canalicules ?) qui partent de la profondeur des tissus adjacents et se terminent dans la lumière, à l'apex du pharynx (fig. 7 D et E). Chez les mêmes spécimens, après fixation au formol et éclaircissement au lactophénol, la paroi du pharynx paraît épaisse, mais de texture spongieuse (fig. 7 C). Le pharynx, quel que soit le stade de son développement est constamment bordé par deux très gros noyaux dorsal et ventral (fig. 7 A à G). La bouche paraît légèrement ovalaire ; en vue apicale quatre papilles sont discernables et deux amphides exiguës (fig. 7 F).

A la mue II, la communication entre l'intestin et le rectum est réalisée ; le bouchon anal et les déchets intestinaux sont expulsés.

FORME INFESTANTE (fig. 8).

La région céphalique se rétrécit à l'apex ; la tête est légèrement bombée sous la poussée des papilles du cycle labial externe ; il n'y a pas de reliefs médians. La bouche est hexagonale, légèrement comprimée latéralement avec les angles dorsal et ventral arrondis ; il n'y a ni lèvres ni pseudolèvres ; cycle labial interne de six papilles ; cycle labial externe et cycle céphalique de quatre papilles chacun (fig. 8 C). La cavité buccale est courte, hexagonale, cuticularisée ; elle est limitée à sa base par quatre dents latéro-



FIG. 7. — *Draschia megastoma*. — A et B, jeune 2^e stade : en A, début de la formation du pharynx, vue latérale ; en B, multiplication des noyaux du futur œsophage glandulaire. — C : région pharyngienne d'un stade II fixé au formol, vue latérale. — D et E : région pharyngienne, à frais, respectivement en vue médiane et en vue latérale. — F : tête, en vue apicale d'un stade II. — G : coupe transversale optique de la région pharyngienne. — H : ornementation cuticulaire du stade I. — I, I' et I'' : stade II en vue latérale. — J : région caudale du même stade en vue ventrale. — K : capsule d'un stade II

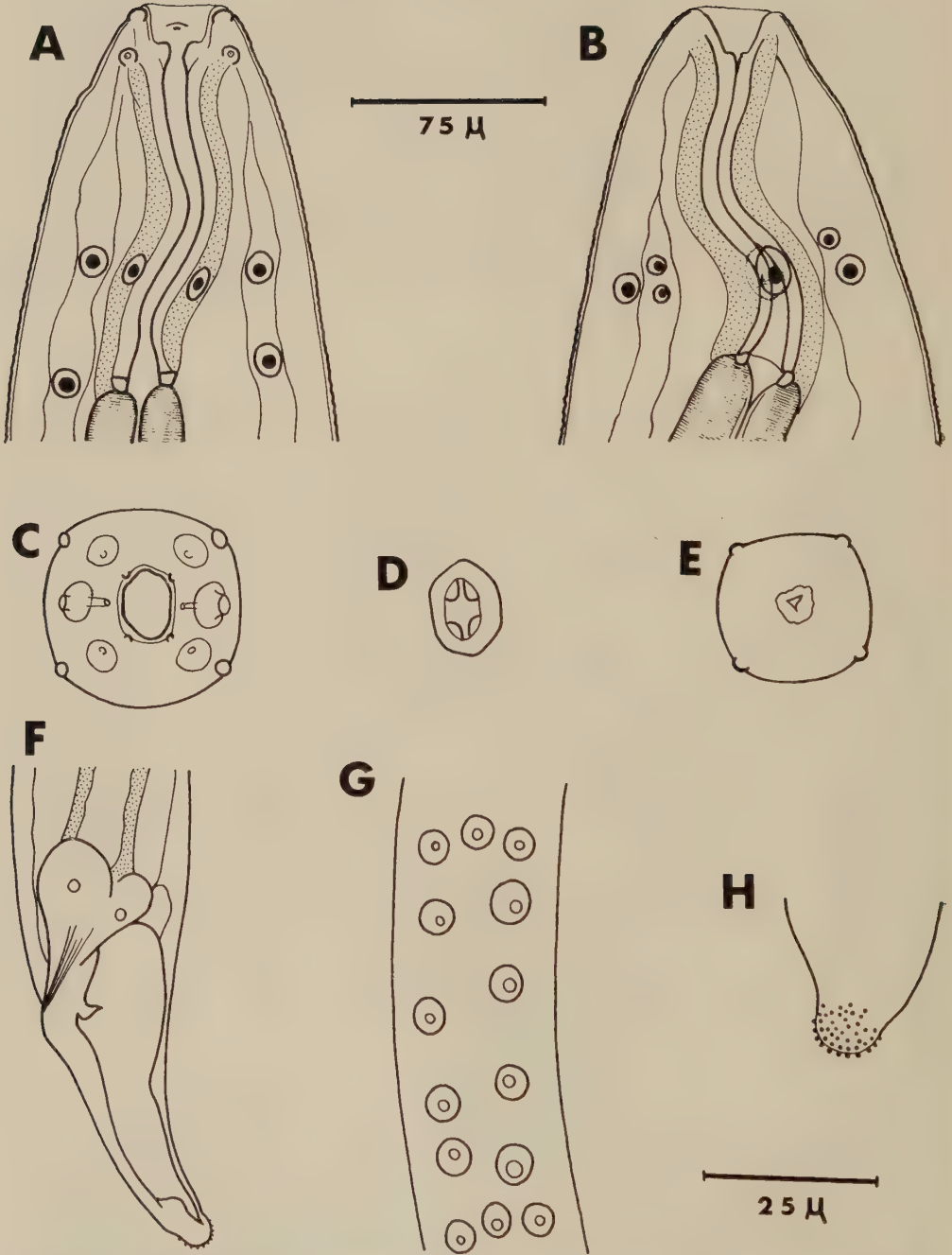


FIG. 8. — *Draschia megastoma*, stade infestant. — A: tête, vue latérale. — B: *idem*, vue médiane (les papilles ne sont pas représentées). — C: *idem*, vue apicale. — D: coupe transversale optique du pharynx au niveau des dents. — E: *idem*, coupe plus profonde. — F: région caudale, vue latérale. — G: corde latérale. — H: extrémité caudale

dorsales et latéro-ventrales (fig. 8 D). Le pharynx a une section triangulaire ; il est allongé, bordé par deux noyaux, ventral et dorsal, qui sont inclus dans le tissu pharyngien ; la base du pharynx est renforcée par un anneau cuticulaire (fig. 8 A, B, E). La cuticule du stade infestant est finement striée transversalement ; corde latérale constituée, dans la région moyenne du corps, par trois rangées de noyaux ; la file centrale a des noyaux très espacés (fig. 8 G) ; pas d'ailes latérales ; l'œsophage musculaire présente souvent une région antérieure un peu différente à paroi plus fortement cuticularisée ; l'intestin est vide, avec une paroi épaisse. La région caudale est recourbée vers la face dorsale ; la queue se termine par un renflement sphérique, couvert de petites pointes (fig. 8 F et H).

Conclusion.

Chez *D. megastoma*, l'évolution de la région céphalique est particulièrement nette : la zone buccale s'invagine à la mue I pour former une cavité buccale ; un segment cuticulaire, le pharynx, est mis en place au stade II entre cette cavité et l'œsophage. À la lumière de ces observations, il devient possible d'interpréter les structures préœsophagiennes des larves des Filaires et d'homologuer leur « capsule buccale » au pharynx des Spirurides.

Dipetalonema viteae (Krepkogorskaya, 1933).

Le cycle de *Dipetalonema viteae* a été étudié par Chabaud en 1954. Cette Filaire de Rongeur est très facile à entretenir au laboratoire, mais son évolution morphologique durant le premier stade est restée longtemps mal connue, à cause de l'extrême minceur des larves, qui rend les observations très difficiles. Nous décrivons ici la morphologie de cette espèce, dont nous avons pu reprendre utilement l'étude, après avoir observé de nombreux cycles de Filaires.

Matériel.

D. viteae est une Filaire entretenue au laboratoire chez le Hamster (hôte définitif expérimental) et la Tique *Ornithodoros tartakowskyi* (hôte intermédiaire). Les Ornithodores s'infestent en se gorgeant sur un Hamster dont le sang est riche en microfilaires.

Allure du développement.

Les larves se développent dans les muscles (muscles dorso-ventraux et musculature du pharynx) ; elles peuvent exceptionnellement se développer dans les acini venimeux (Bain, 1967).

À 29° les mues I et II s'effectuent respectivement le 11° et le 18° jour. Les premières formes infestantes apparaissent le 21° jour.

Croissance et dimensions.

La microfilaire ne grandit pratiquement pas, ni en largeur ni en longueur, pendant les huit premiers jours ; un peu avant la première mue, la larve commence à s'allonger ; la croissance devient alors rapide.

Microfilaire : corps long de 247 μ et large de 5 μ ; anneau nerveux et pore excréteur situés respectivement à 48 μ et 78 μ de l'apex ; noyau excréteur à 12 μ du pore excréteur ; R_1 à 175 μ de l'apex ; distances $R_1 - R_2$ et $R_2 - R_4$ respectivement de 12 μ et 5 μ ; R_4 à 50 μ de l'extrémité postérieure.

Stade I : larve de huit jours : corps long de 245 μ et large de 10 μ ; pore excréteur à 75 μ de l'apex ; rectum haut de 27 μ ; queue longue de 50 μ .

Mue I : corps long de 305 μ et large de 20 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 60 μ et 85 μ de l'apex ; œsophage long de 120 μ ; intestin de même longueur ; rectum haut de 36 μ ; queue longue de 60 μ ; ébauche génitale à 230 μ de l'apex.

Stade II : larve de 15 jours : corps long de 700 μ et large de 25 μ ; pharynx haut de 7 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 72 μ et 110 μ de l'apex ; œsophage long de 280 μ (œsophage glandulaire long de 130 μ) ; queue longue de 45 μ ; ébauche génitale longue de 32 μ .

Stade infestant (selon Chabaud, 1954) corps long de 1.300 à 1.600 μ ; chez un spécimen long de 1.400 μ , largeur de 6 μ , anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 52 μ et 90 μ de l'apex ; œsophage musculaire et glandulaire longs respectivement de 150 μ et 470 μ ; queue longue de 65 μ .

Etude morphologique.

La fin du deuxième stade larvaire et la forme infestante ont été bien décrites par Chabaud (1952) ; nous n'étudions ici que le début de la morphogenèse et nous précisons la structure céphalique de la forme infestante.

MICROFILAIRES (fig. 9 A).

Corps très allongé, sans gaine. Tête ronde, munie d'un crochet puissant subterminal (latéral gauche ?) dont la pointe fine et longue est dirigée vers l'arrière du corps ; du côté opposé au crochet, il existe une crête qui porte quelques épines cuticulaires. La région apicale comprise entre ces deux pièces sclérifiées peut se rétracter et entraîne alors le crochet et la crête qui viennent au contact l'un de l'autre (fig. 9 B). Les fibrilles contractiles qui activent cette région forment deux courtes bandes longitudinales. La cuticule est épaisse. Les noyaux sous-cuticulaires sont triangulaires, épais, irrégulièrement colorés à l'Azur II. L'emplacement de l'anneau nerveux est marqué par une zone transversale sans noyau. Le noyau excréteur est nettement plus postérieur que le pore excréteur ; celui-ci est entouré d'une frange chromophile. Le noyau R_1 est séparé du

groupe R_2 et R_4 . Le pore anal n'est pas visible. La queue est effilée et se termine par une pointe anucléée.

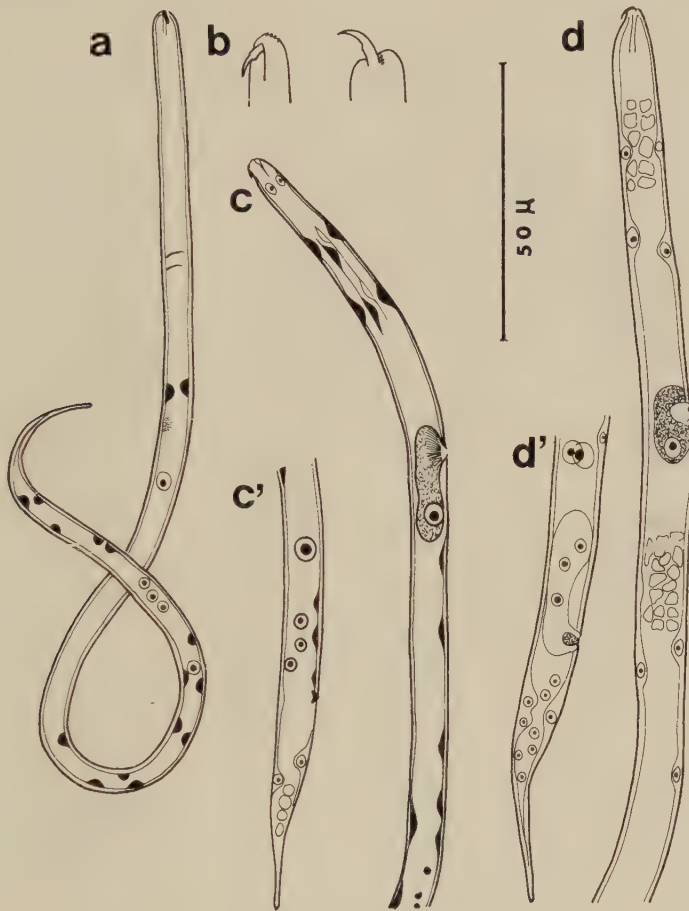


FIG. 9. — *Dipetalonema viteae*, microfilare et larves en vue latérale. — A : microfilare. — B : région apicale de la microfilare au repos et rétractée (à main levée). — C et C' : larve de 6 jours. — D et D' : larve de 7-8 jours, montrant la 1^{re} division de R_1 (les noyaux de la colonne nucléaire ne sont représentés que dans 3 régions)

PREMIER STADE.

La larve garde longtemps un aspect et une anatomie de microfilare. Vers le sixième jour (fig. 9 C et C'), les premières modifications apparaissent ; les cellules sous-tégumentaires augmentent de taille (surtout dans la région postérieure), mais gar-

dent leur forme triangulaire ; elles paraissent être disposées en quatre files longitudinales : une dorsale, une ventrale et deux latérales ; deux noyaux ovoïdes sont visibles au voisinage de la musculature céphalique. La cellule excrétrice est oblongue ; son cyto-

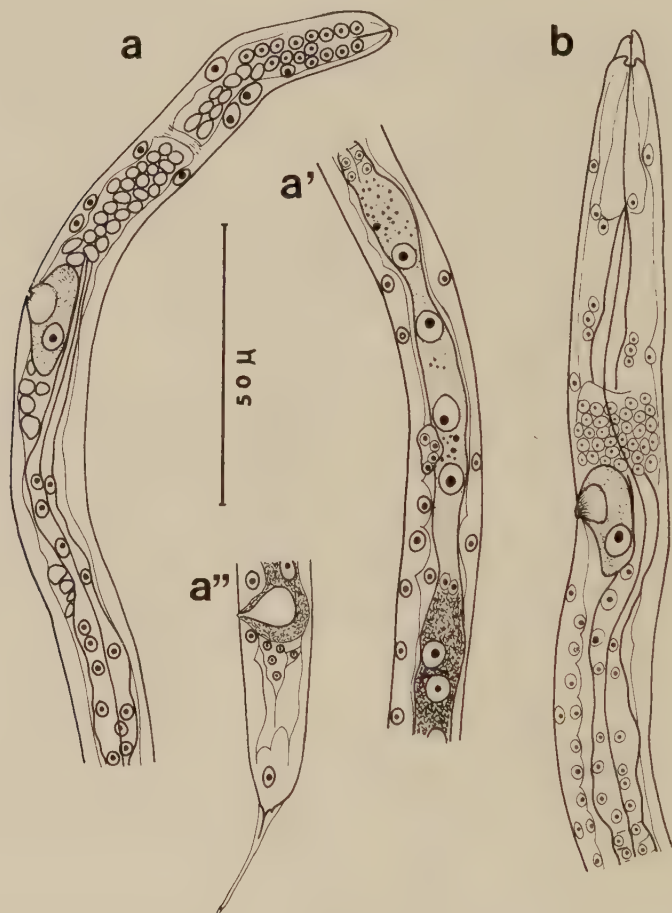


FIG. 10. — *Dipetalonema viteae*, larves de 10-11 jours en vue latérale. — A et A' : une larve au commencement de la mue I ; la région antérieure de l'œsophage n'est pas encore organisée. — B : région antérieure d'une larve en mue I plus avancée

plasme apical a une structure radiée. Les noyaux de la colonne nucléaire s'arrondissent dans la région postérieure. Le noyau R_1 grossit ; les noyaux R_2 à R_4 sont toujours alignés. Le pore anal apparaît.

Aux 7^e-8^e jours (fig. 9 D et D'), la cellule excrétrice s'arrondit. R_1 se divise une fois. Les noyaux R_2 à R_4 sont enrobés dans la même masse cytoplasmique ; un petit bouchon

cuticulaire anal apparaît. Dans la région moyenne de la larve, la minceur du corps rend difficile la discrimination entre les noyaux tégumentaires et ceux de la colonne nucléaire ; ils sont tous vésiculeux et à nucléole.

Les 10^e-11^e jours, l'organisation de la larve a beaucoup progressé (fig. 10). Le tégument semble être formé par deux couches épithéliales concentriques ; dans la couche sous-cuticulaire, les noyaux sont espacés ; dans la couche interne, ils sont plus nombreux ; les cellules de cette couche font saillie dans la lumière de la cavité générale de la larve (fig. 10 B). En arrière de la cellule excrétrice, l'appareil digestif est représenté par un cordon constitué par différentes régions ; l'œsophage a un segment antérieur très étroit, dorsal par rapport à la cellule excrétrice, et un segment postérieur plus large, riche en noyaux (fig. 10 A) ; sa jonction avec l'intestin est assurée par un petit groupe de cellules chez lesquelles les limites cellulaires sont souvent visibles ; l'intestin débute au niveau où se termine l'axe cuticulaire œsophagien ; il est formé par un étroit cordon de cytoplasme piqué de granules, contenant peu de noyaux (4 ?) très volumineux et clairs (fig. 10 A'). Deux noyaux, plus petits forment la jonction entre l'intestin et le rectum. Celui-ci est très allongé ; son cytoplasme est grenu ; les trois noyaux rectaux sont très nets ; il existe deux noyaux antérieurs, l'un latéral gauche et l'autre latéral droit, et un noyau postérieur ; un groupe de petits noyaux est appendu à la paroi postérieure du rectum (fig. 10 A'').

L'ébauche génitale est logée contre la paroi ventrale de l'intestin ; elle contient quatre noyaux (fig. 10 A'). A l'extrémité antérieure du corps, la cuticule se décolle légèrement ; à l'extrémité postérieure, le cytoplasme de la pointe caudale est dégénéré : la larve est en mue I. Chez des spécimens où l'exuvie I est un peu plus décollée, les deux angles de la base du crochet céphalique paraissent reliés à la pulpe du jeune stade II par deux fins ligaments (fig. 11 A).

DEUXIÈME STADE.

L'œsophage s'organise progressivement dans la région antérieure (fig. 11 B et 12 A), mais il n'atteint jamais le pore buccal ; entre celui-ci et l'œsophage subsiste un segment cuticularisé court (fig. 11 B), puis un tube très mince qui présente trois anneaux de cuticularisation (fig. 12 A). La région œsophagienne qui s'étend jusqu'à la base de la cellule excrétrice est mince, avec des noyaux rares, tandis que la région postérieure est plus large et subit des multiplications nucléaires (fig. 11 B' et 12 A'). Entre l'œsophage et l'intestin, une région rétrécie, à quelques noyaux, représente la valvule œsophagienne. L'intestin est un cordon plein ; les noyaux sont assez nombreux, plus petits qu'au stade I ; le cytoplasme renferme quelques granules (fig. 11 B'). Entre l'intestin et le rectum, deux petits noyaux (un dorsal et un ventral) constituent le prérectum, au cytoplasme grenu. Le rectum reste allongé, également à cytoplasme grenu, toujours avec trois noyaux. Quelques cellules forment un manchon autour de la partie distale du rectum ; leur cytoplasme est en continuité avec celui des cellules sous-tégumentaires. Le bouchon anal n'a plus une structure homogène : il comprend une frange très réfringente située au contact des trois cellules rectales et une zone distale moins brillante qui fait légèrement saillie à l'extérieur (fig. 11 B''). L'ébauche génitale est au niveau de l'intestin, mais plus anté-

rière ; chez les jeunes stades II, elle est constituée par de nombreux noyaux (fig. 13 A"). Vers le 15^e jour, la cuticule du stade II commence à se décoller dans la région caudale (fig. 12 B). Les cellules ganglionnaires appendues à l'anneau nerveux forment un massif

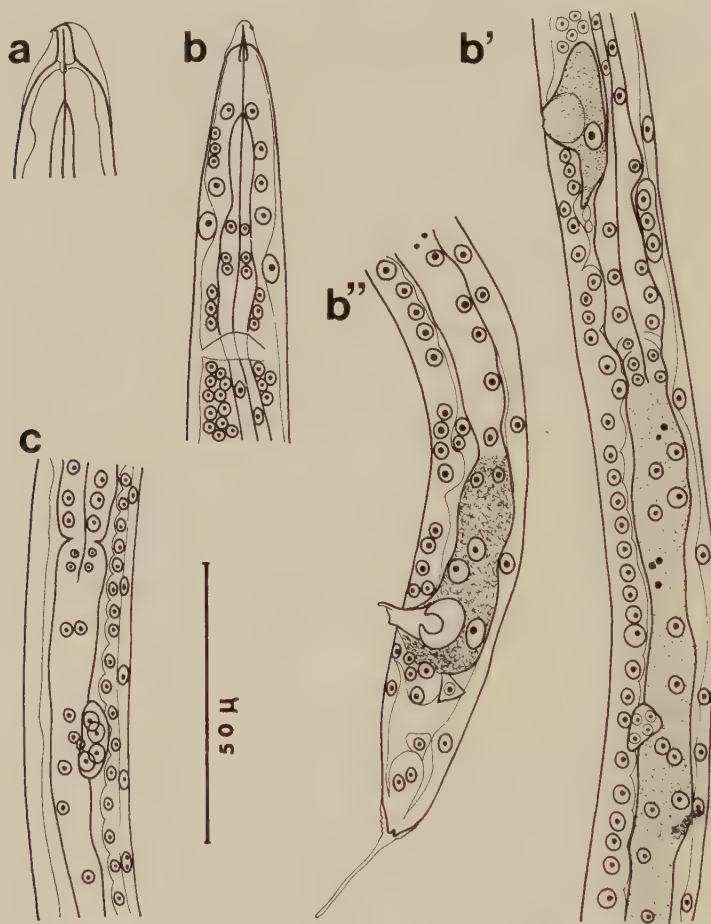


FIG. 11. — *Dipetalonema viteae*, larves en vue latérale. — A : détail de la région céphalique d'une larve en mue I. — B à B' : un jeune stade II. — C : l'ébauche génitale, juste avant la phase de multiplication cellulaire

ventral et deux massifs latéraux plus courts (fig. 12 A). La cellule excrétrice est très volumineuse. La portion antérieure de l'œsophage reste mince ; la portion postérieure présente une couche interne de gros noyaux espacés et une couche externe de nombreux petits noyaux (fig. 13 A'). L'intestin n'a pas de lumière ; ses noyaux sont disposés en deux files (fig. 13 A"). Le prérectum n'est pas discernable. Le rectum comprend deux

parties : les trois volumineuses cellules rectales et le manchon distal. Le bouchon anal est saillant ; la frange réfringente en contact avec les trois cellules rectales est devenue denticulée.

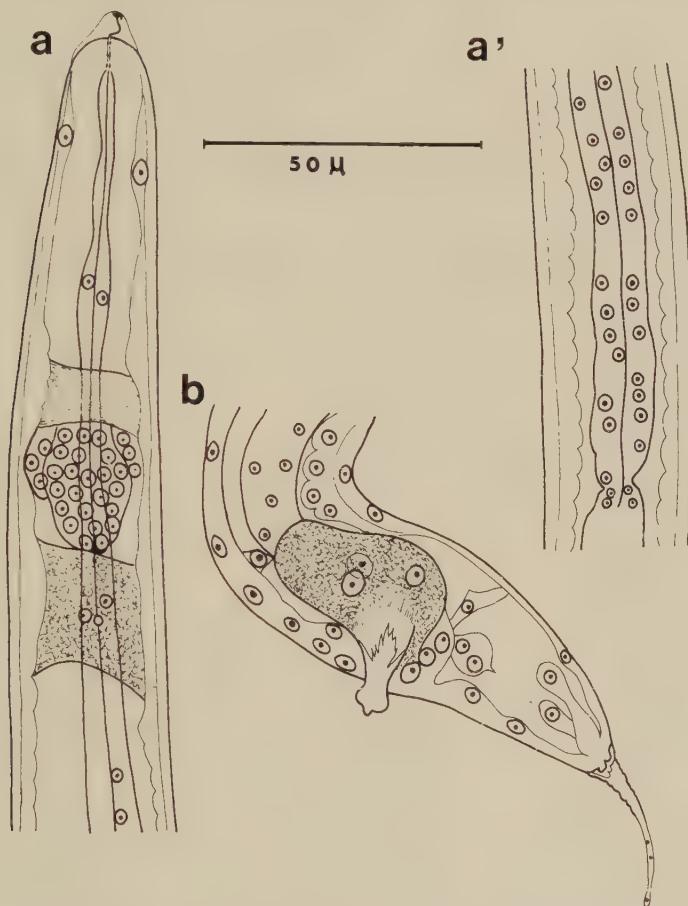


FIG. 12. — *Dipetalonema viteae*. — A et A' : un stade II de 14-15 jours, en vue ventrale, montrant les divisions nucléaires au niveau de l'œsophage postérieur. — B : région caudale d'une larve au début de la mue II, le 15^e jour, en vue latérale

Vers le 18^e jour, les exuvies I et II sont expulsées.

FORME INFESTANTE.

Les structures nucléaires ne sont plus visibles sauf dans l'ébauche génitale. La tête est très petite ; elle porte deux cercles de quatre papilles chacun (seul le cercle céphalique a été observé en vue apicale) ; les amphides sont un peu en arrière du cycle labial

externe. Le tube qui s'intercale entre la bouche et l'œsophage comprend une portion antérieure peu sclérifiée, aplatie latéralement, et une portion bien cuticularisée enchâssée dans l'œsophage, à section triangulaire (fig. 13 B, C, D).

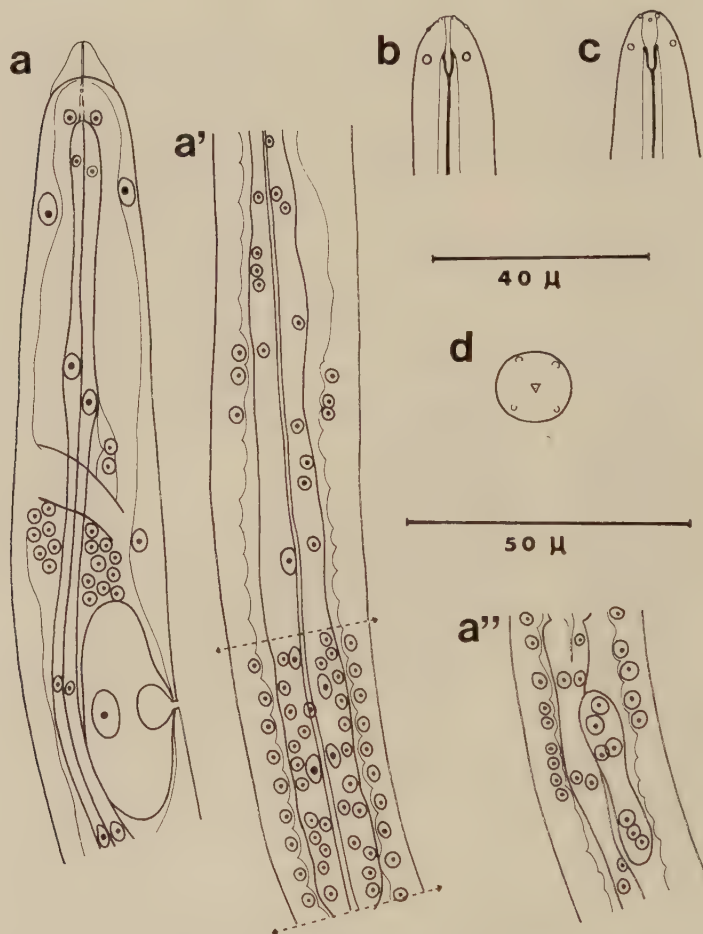


FIG. 13. — *Dipetalonema viteae*. — A, A' et A'' : un stade II âgé en vue latérale (la structure de l'œsophage glandulaire est seulement représentée dans la région postérieure). — B à D : extrémité céphalique d'un stade infestant, successivement en vue médiane, latérale et apicale (A et A'', éch. : 50 μ ; B à D, éch. : 40 μ)

Conclusion.

Nous avons voulu préciser chez *D. viteae* la morphogenèse de l'œsophage : le bourgeon œsophagien le plus antérieur est mis en place très tardivement, au moment de la mue I ; la portion postérieure de l'œsophage, dont les noyaux se multiplient au cours

du stade II, donne naissance à l'œsophage glandulaire ; il comprend un cortex riche en petits noyaux ronds (les noyaux glandulaires) et une étroite région axiale à noyaux espacés et ovoïdes (les noyaux œsophagiens, *sensu stricto*). En outre, l'ébauche génitale, dont les noyaux sont généralement très difficiles à dénombrer, contient clairement ici quatre noyaux, au stade I ; comme chez les Spiruridés, ces noyaux se multiplient au cours du stade II.

Dipetalonema dracunculoides (Cobbold, 1870).

Nelson, en 1963, a réussi au Kenya le cycle de *D. dracunculoides* chez *Hippobosca longipennis* et le décrit dans ses grandes lignes. Nous avons eu à notre disposition des stades infestants vivants (3) de cette espèce et nous en donnons une description plus détaillée.

Matériel.

Les stades infestants ont été récoltés chez des *Rhipicephalus sanguineus* ♀, gorgés sur des chiens algériens infestés par *D. dracunculoides* (identification effectuée sur les adultes récoltés à l'autopsie des chiens).

Dimensions.

Forme infestante : corps long de 2 350 μ et large de 25 μ ; pharynx haut de 7 μ ; anneau nerveux et pore excréteur situés respectivement à 130 μ et 185 μ de l'apex ; œsophages musculaire et glandulaire longs respectivement de 220 μ et 900 μ ; rectum long de 32 μ ; queue longue de 98 μ ; ébauche génitale située soit à 100 μ environ en arrière de la jonction œsophage musculaire-œsophage glandulaire, soit à une centaine de μ en arrière de la jonction œsophage-intestin.

Etude morphologique de la forme infestante (fig. 14 et 15).

La tête est arrondie ; elle porte deux cercles de quatre papilles : un cercle labial externe très antérieur et un cercle céphalique plus postérieur. Les amphides sont à peu près à mi-hauteur entre ces deux cercles. La bouche est aplatie latéralement. Elle s'ouvre dans un tube, également aplati latéralement ; ce tube comporte une partie antérieure peu sclérifiée, et un court segment postérieur, très cuticularisé ; celui-ci est lui-même constitué d'un anneau large qui repose sur l'œsophage suivi d'un anneau étroit qui est enfoncé dans le tissu œsophagien (fig. 14). Les cellules ganglionnaires appendues à l'anneau nerveux forment deux petites masses ventrale et dorsale et deux masses latérales beaucoup plus longues. Le pore excréteur est exigu et communique avec la cellule excrétrice allongée par un conduit excréteur court. L'œsophage comprend deux portions

(4) M. Adadi nous a procuré des Tiques infestées et nous lui en sommes très reconnaissante.

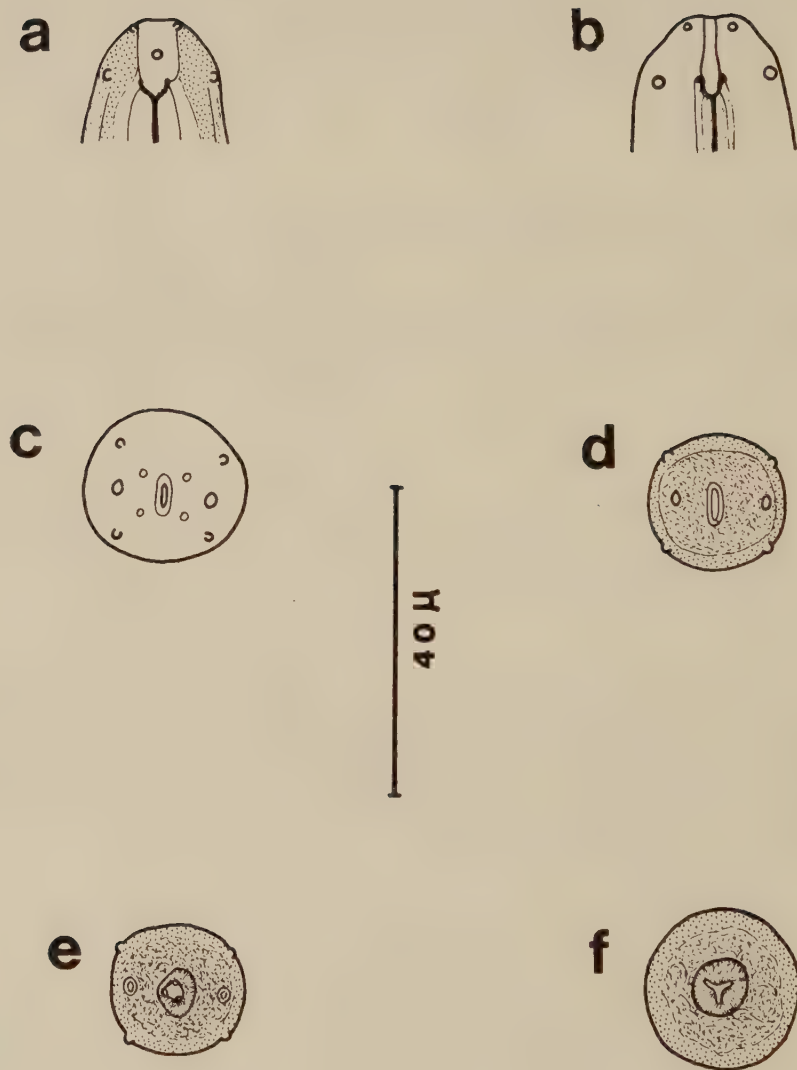


FIG. 14. — *Dipetalonema dracunculoides*; région céphalique de la forme infectante. — A : vue latérale. — B : vue médiane. — C : vue apicale. — D, F et E : coupes optiques respectivement dans la région non cuticulaire du pharynx, au début de l'œsophage et dans l'œsophage musculaire

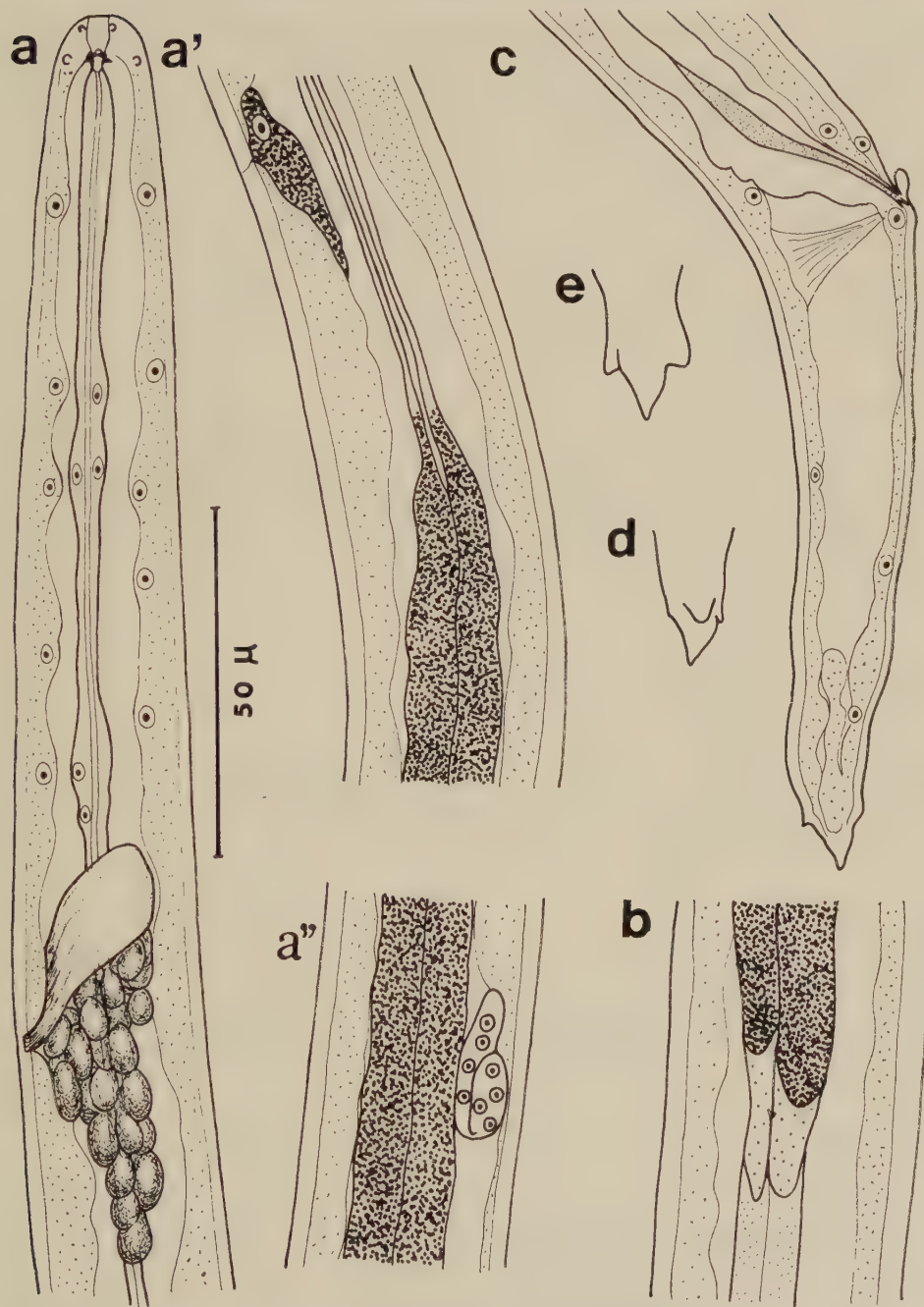


FIG. 15. — *Dipetalonema dracunculoides*, forme infestante. — A et A' : région antérieure en vue latérale. — A'' : ébauche génitale près de l'œsophage glandulaire chez une forme infestante ♀. — B : jonction œsophage-intestin. — C : région caudale. — E et D : extrémité caudale, respectivement en vue médiane et latérale

très distinctes : l'œsophage musculaire mince qui s'étend au-delà de la cellule excrétrice et l'œsophage glandulaire large, au cytoplasme granuleux (fig. 15 A et A'). L'intestin est creux mais ses deux parois épaisses sont appliquées l'une contre l'autre (fig. 15 B). Le rectum est allongé, un peu plus large à son apex que l'intestin ; sa lumière est fortement cuticularisée ; il n'y a pas de bouchon anal. La lèvre postérieure de l'anus peut être saillante. La musculature anale est mise en place (fig. 15 C). La queue est allongée ; son extrémité est complexe : il existe un gros lobe terminal pointu et deux lobes latéraux ; la base du lobe terminal est soulignée par deux petites pointes ventrale et dorsale (fig. 15 D et E).

L'ébauche génitale est plurinucléée et ventrale ; elle est située soit près de la région antérieure de l'œsophage glandulaire ♀ (fig. 15 A''), soit près de l'intestin ♂.

Conclusion.

La morphologie de la région céphalique de *D. dracunculoides* peut être prise comme type pour les Filaires : la tête est ornée par deux cercles de quatre papilles chacun (quatre papilles labiales externes, quatre papilles céphaliques plus postérieures) et deux amphides ; à la bouche fait suite un pharynx aplati latéralement, qui n'est fortement cuticularisé qu'à sa base.

Wuchereria bancrofti (Cobbold, 1877).

La morphologie larvaire de *W. bancrofti* a été étudiée avec soin par Abe en 1937 puis par Kobayashi en 1940 ; nous reprenons toutefois l'étude de ce matériel, car les hypothèses de ces auteurs sur l'origine de certains organes de la larve diffèrent de ce que nous avons observé régulièrement chez d'autres espèces.

Matériel (5).

Le porteur de microfilaires de *W. bancrofti* est originaire de Koupela, situé au nord de la Haute-Volta.

Le vecteur, *Anopheles gambiae* A, est une souche de Tonogosso (Haute-Volta) qui est entretenue à la Section Entomologique du Centre Muraz (Bobo-Dioulasso, Haute-Volta).

Allure du développement.

La larve se développe dans les muscles thoraciques.

A 26°-28°, les mues I et II s'effectuent respectivement le 5^e jour et le 10^e jour. Les premières formes infestantes apparaissent le 11^e jour.

(5) Cette étude a été effectuée au laboratoire d'Entomologie (O.R.S.T.O.M.) du Centre Muraz, grâce à l'aide de M. Brengues, que nous remercions très amicalement.

Croissance et dimensions.

La larve s'épaissit et atteint sa plus petite longueur vers la 70^e heure. A la mue I, elle a la longueur de la microfilaire. Ensuite, la croissance est importante.

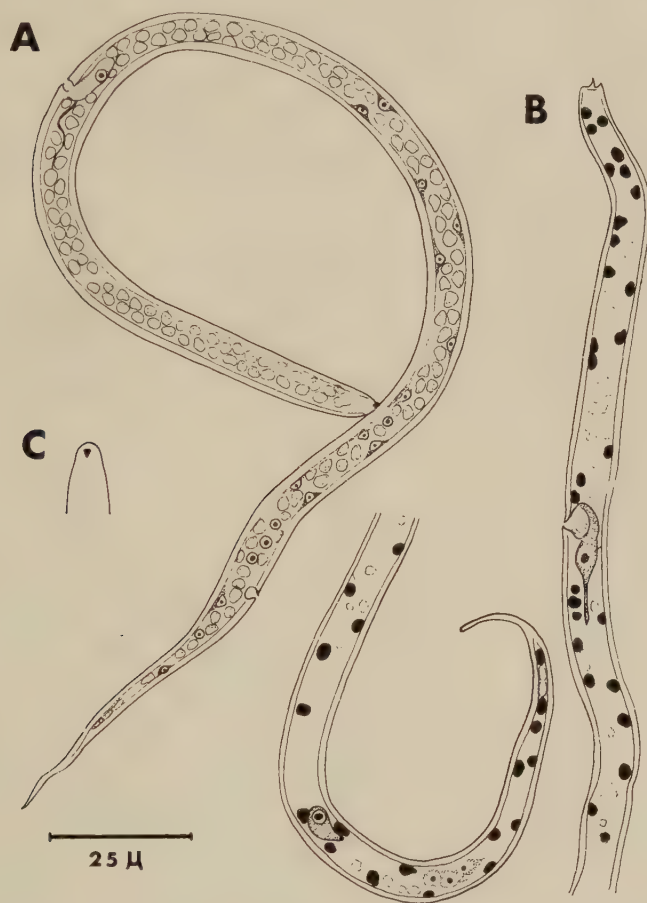


FIG. 16. — *Wuchereria bancrofti*. — A : microfilaire. — B : larve de 40 heures. — C : crochet de la microfilaire, vue de face

Microfilaire.

Larve âgée de 15 h : corps long de 316 μ , large de 8 μ ; espace céphalique haut de 6 μ ; anneau nerveux, pore excréteur et noyau excréteur respectivement à 58 μ , 90 μ et 97 μ de l'apex ; R₁ à 218 μ de l'apex ; distance R₁-R₂ et R₁-R₄ respectivement égales à 27 μ et 37 μ ; queue longue de 55 μ .

Stade I : larve de 70 h : corps long de 168 μ et large de 18 μ ; pore excréteur, début de l'ébauche intestinale, $R_1 \times 2$ situés respectivement à 50 μ , 90 μ et 110 μ de l'apex ; ébauche intestinale haute de 12 μ ; queue longue de 38 μ et pointe caudale de 22 μ .

Mue I : corps long de 265 μ et large de 36 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 50 μ et 65 μ de l'apex ; œsophage, intestin et rectum longs respectivement de 92 μ , 65 μ et 45 μ ; queue et pointe caudale longues respectivement de 53 μ et de 22 μ ; ébauche génitale à 140 μ de l'apex.

Stade II : larve de huit jours : corps long de 515 μ , large de 35 μ ; pharynx haut de 6 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 82 μ et 118 μ de l'apex ; œsophage, intestin et rectum longs respectivement de 160 μ , 180 μ et 50 μ ; queue longue de 46 μ .

Mue II : corps long de 1 250 μ et large de 45 μ .

Forme infestante : longueur du corps allant de 1 500 μ à 1 620 μ avec longueur de l'œsophage variant de 510 μ à 580 μ . Chez le spécimen figuré, corps long de 1 620 μ , large de 30 μ ; pharynx haut de 10 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 118 μ et 160 μ de l'apex ; œsophage long de 580 μ (œsophage musculaire long de 190 μ) ; masse ganglionnaire haute de 42 μ ; rectum long de 95 μ , queue longue de 65 μ .

Etude morphologique.

MICROFILAIRE.

Elle a été très bien étudiée par Rodenwalt (1908 et 1909) et par Fülleborn (1913). Nous représentons (fig. 16 A et C) une de celles que nous avons observées.

PREMIER STADE (fig. 16, 17, 18 et 19).

Jusqu'à la 40^e heure, la larve est encore très proche de la microfilarie (fig. 16 B et 17 A). Les premières modifications s'observent chez les larves de 60 heures (fig. 17 B) : les noyaux sous-cuticulaires sont plus gros ; la cellule excrétrice est volumineuse ; un axe cuticulaire médian s'étend du voisinage de la cellule excrétrice jusqu'à mi-hauteur du corps ; chez certaines larves un massif cytoplasmique granuleux, renfermant quelques noyaux ronds et à nucléole, se dessine en arrière de cet axe ; la cellule R_1 a un cytoplasme bien individualisé et son noyau est très gros ; les noyaux R_2 , R_3 et R_4 forment le rectum ; les limites cellulaires sont visibles, le bouchon cuticulaire anal est petit.

Chez la larve de 70 heures (fig. 18 A), les noyaux sous-cuticulaires sont ronds et avec nucléole. La cellule R_1 se divise une fois ; le rectum est parfois prolongé à son apex par une bande cytoplasmique verticale (fig. 18 B). Chez des spécimens plus avancés, les deux cellules filles de R_1 se divisent à nouveau ; les quatre cellules filles sont situées dans le même plan transversal ; deux sont latéro-ventrales et deux sont latéro-dorsales. En avant des cellules R_1 , le massif cytoplasmique submédian se développe ; ses noyaux sont devenus assez gros pour être dénombrés : il en existe 5 (fig. 18 B et C).

Chez une larve de quatre jours (fig. 18 D), la région antérieure à la cellule excrétrice n'est pas organisée ; mais en arrière, l'appareil digestif est représenté par un cordon plein qui comprend trois régions : l'œsophage muni d'un axe cuticulaire, contenant des



FIG. 17. — *Wuchereria bancrofti*, larves en vue latérale. — A : larve de 40 h. — B : larve de 60 h. — C : région postérieure d'une larve de 60 h plus évoluée

noyaux assez nombreux, répartis irrégulièrement ; une zone étroite, à quatre noyaux environ, fait la jonction entre l'œsophage et l'intestin ; l'intestin a un cytoplasme granuleux et renferme cinq noyaux ; la jonction entre l'intestin et le rectum est marquée par deux noyaux plus petits ; le rectum est essentiellement constitué par un massif à

trois noyaux ; sa face postérieure est doublée par une couche de quelques cellules ; le bouchon cuticulaire n'est pas saillant ; vu de face, il présente trois cloisons incomplètes (une dorsale et deux latéro-ventrales) (fig. 18 E). Le tégument est très épais sous la cellule excrétrice. Quelques grosses cellules s'observent près de la face ventrale de l'intestin.



FIG. 18. — *Wuchereria bancrofti*. — A : larve de 70 h en vue latérale, à la 1^{re} division de R₁. — B : *idem*, avec ébauche intestinale de 5 cellules. — C : *idem*, région postérieure en vue dorsale ; 2 des 4 cellules filles de R₁ sont visibles. — D : larve de 4 jours en vue latérale. — E : bouchon anal vu de face



FIG. 19. — *Wuchereria bancrofti*, larves en vue latérale. — A : stade I âgé, en vue latérale. — B : larve de 5 jours, en mue I. — C : stade II jeune

Par la suite, l'œsophage s'organise complètement, mais il s'arrête à une dizaine de μ du pore buccal, auquel il est relié par un simple axe cuticulaire ; les noyaux œsophagiens situés en arrière de la cellule excrétrice et les noyaux intestinaux se multiplient (fig. 19 A).

A la mue II, l'axe cuticulaire préœsophagien est bordé par une cellule ventrale et une cellule dorsale. L'œsophage comprend une région antérieure mince et une région

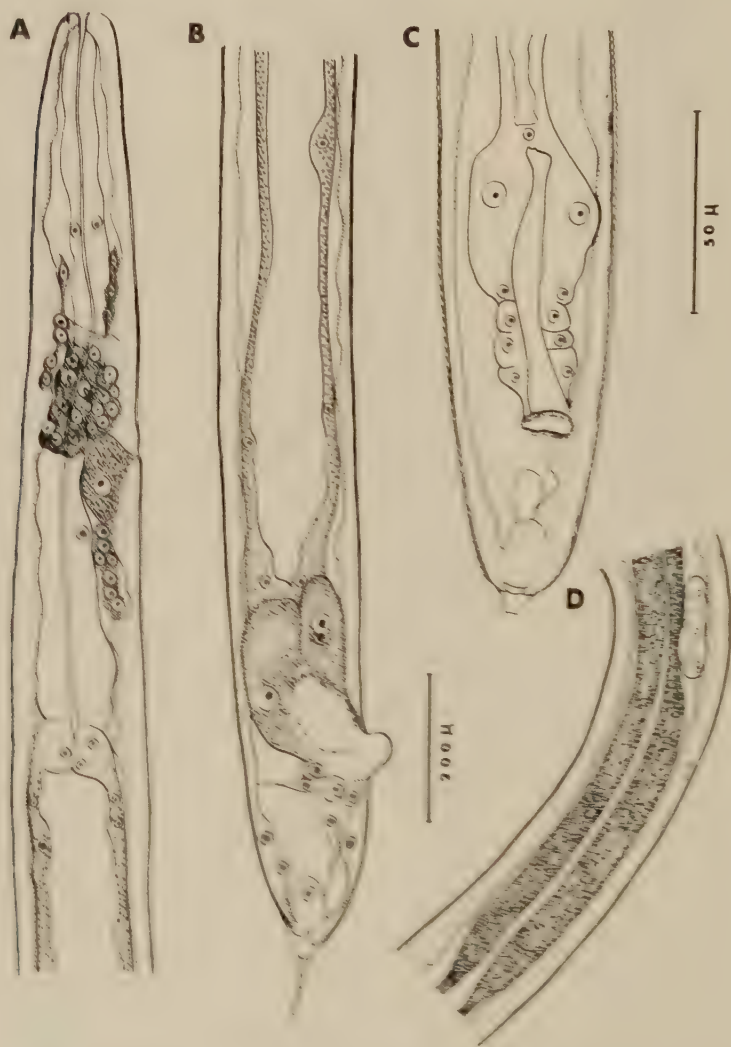


FIG. 20. — *Wuchereria bancrofti*. — A et B: stade II âgé de 10 jours, en vue latérale. — C: région caudale d'une larve de 10 jours au début de la mue II. — D: emplacement de l'ouverture génitale chez une femelle adulte.

postérieure large. Le rectum est très volumineux ; le bouchon cuticulaire anal est séparé du cytoplasme des cellules rectales par une bordure striée radiairement. L'ébauche génitale de quatre cellules est située près de la face ventrale de l'intestin (fig. 19 B).

DEUXIÈME STADE (fig. 19 C et 20 A et B).

L'exuvie du stade I persiste pendant tout le stade II dans la région caudale mais finit par être éliminée dans la région antérieure. Le tégument est formé par deux couches de cellules. A la bouche fait suite une invagination en forme d'entonnoir puis un tube cuticularisé court, entouré par un manchon cytoplasmique. L'intestin est creux et son cytoplasme se charge de réserves. Le rectum s'allonge et s'amincit ; il comprend deux parties : la région proximale formée par trois volumineuses cellules et un tube cellulaire distal (fig. 20 B) ; l'ouverture de l'anus est festonnée.

À la mue II, les exuvies I et II sont expulsées ainsi que le bouchon anal.

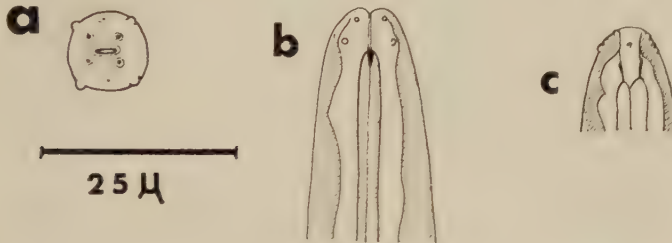


FIG. 21. — *Wuchereria bancrofti*, région céphalique d'une forme infestante. — A : vue apicale. — B : vue médiane. — C : vue latérale

FORME INFESTANTE (fig. 20 D, 21 et 22).

La tête est ronde et porte quatre papilles labiales externes situées près de la bouche et quatre papilles céphaliques plus postérieures ; deux légers reliefs cuticulaires sont situés dans le plan latéral près de la bouche ; amphides un peu en avant du cercle céphalique. Bouche aplatie latéralement : tube préœsophagien sclérifié seulement près de l'œsophage et aplati aussi latéralement (fig. 21). Appareil excréteur comprenant un canal assez allongé, un sinus bien ouvert, une cellule excrétrice ovale ; les deux branches excrétrices partent de la région postérieure de cette cellule et ont une direction parallèle à l'axe du corps. Un massif ganglionnaire est situé en arrière de la cellule excrétrice (fig. 22 A). Œsophage musculaire allongé, se terminant en arrière de la cellule excrétrice. Œsophage glandulaire, à cytoplasme grenu, plus long que l'œsophage musculaire. Intestin à paroi mince. Le rectum est très allongé et les glandes rectales sont bien individualisées. L'ébauche génitale plurinucléée est au niveau de l'intestin ou au niveau de l'œsophage. La queue a une forme en battant de cloche plus ou moins accentuée ; les languettes caudales qui l'ornent ont une position variable (fig. 22 C, D et E) ; il y a généralement deux languettes, parfois une seule.

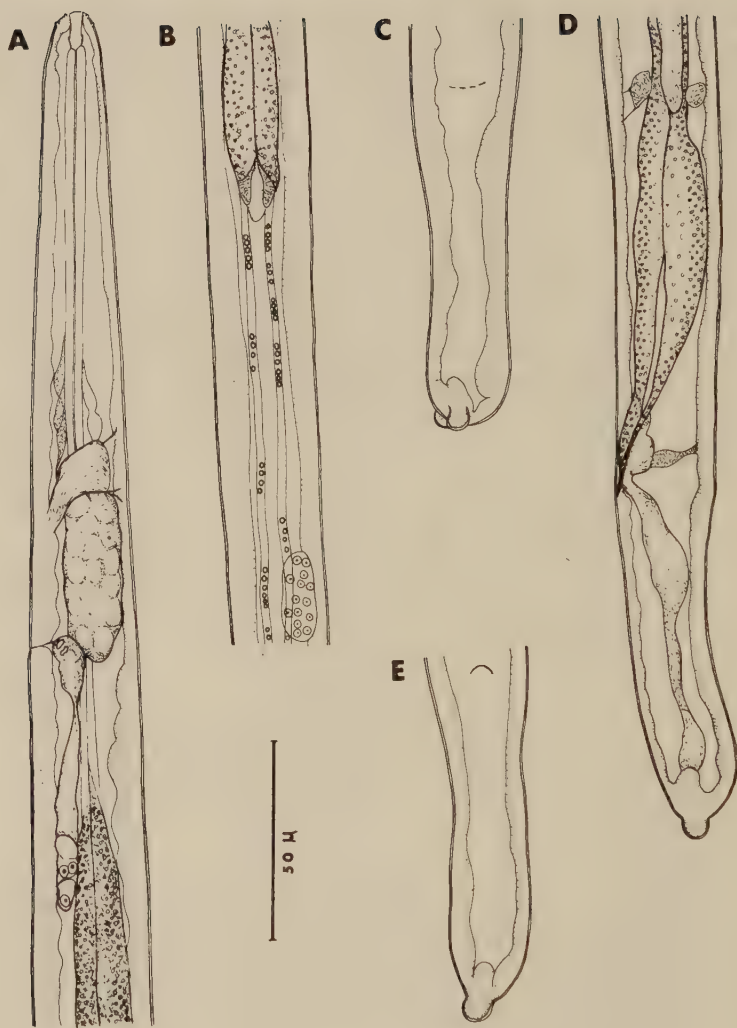


FIG. 22. — *Wuchereria bancrofti*, forme infestante. — A : région antérieure, vue latérale. — B : position de l'ébauche génitale chez une larve ♂. — C : région caudale d'une larve en vue dorsale. — D et E : région caudale d'une autre larve, en vue latérale et ventrale

Conclusion.

Chez *W. bancrofti*, nous retrouvons l'ébauche intestinale de cinq cellules, le pré-rectum de deux cellules, les trois cellules rectales et les quatre cellules filles de R_1 disposées dans les axes latéro-ventraux et latéro-dorsaux. La formation du rectum est clarifiée : les cellules R_2 , R_3 et R_4 , qui sécrètent le bouchon anal, s'allongent et s'éloignent

de l'anوس chez la forme infestante ; elles forment les trois glandes rectales ; un groupe de petites cellules, accolées à la portion distale du rectum au stade I, s'intercale entre les glandes rectales et l'anوس chez la forme infestante et forme le tube rectal.

Onchocerca gutturosa Neumann, 1910.

Le cycle d'*O. gutturosa* a été établi par Steward en 1937, mais la morphologie larvaire de cette Filaire n'est pas approfondie. Nous avons eu la possibilité d'observer deux phases du cycle (la microfilarie et une larve de 72 heures) ; ces données, bien que fragmentaires, nous paraissent devoir être exposées.

Matériel.

Les observations ont été effectuées à Winches Farm, St. Albans (Laboratoire de la London School of Hygiene and Tropical Medicine) (6).

Les vaches sont assez fréquemment infestées par *O. gutturosa* ; les tendons cervicaux, qui renferment les adultes et les peaux ombilicales, riches en microfilaries, sont récoltés aux Abattoirs.

Les larves du vecteur, *Simulium ornatum*, existent en abondance dans une rivière proche.

Une vache vivante (Caroline) a une faible infestation ; les Simulies gorgées sur elle sont récoltées et mises en élevage à 23°.

Dimensions.

Microfilarie dermique : corps long de 275 μ et large de 6 μ ; noyau excréteur et noyau R_1 respectivement à 108 μ et 190 μ de l'apex ; distances $R_1 - R_2$ et $R_2 - R_4$ respectivement de 32 μ et 8 μ ; queue longue de 42 μ .

Stade I : larve de 72 heures : corps long de 165 μ et large de 18 μ ; anneau nerveux et pore excréteur respectivement à 38 μ et 52 μ de l'apex ; rectum haut de 12 μ ; queue longue de 33 μ .

Etude morphologique.

LA MICROFILAIRE.

1) Microfilaires dermiques (fig. 23).

Tête à peine moins large que le reste du corps, portant un crochet sub-terminal exigu, latéral gauche (la position du crochet n'a pu être précisée que sur la larve en

(6) Nous remercions M. le P^r Nelson, le D^r Webbe et M. Maylor qui nous ont reçue et aidée dans ce laboratoire.

développement) et une plaque cuticularisée apicale (ou quatre aspérités ?) (fig. 24 D). Cuticule du corps épaisse et finement annelée. Queue assez robuste, pointue, fréquemment recourbée vers la face dorsale. Espace céphalique allongé, parcouru par deux

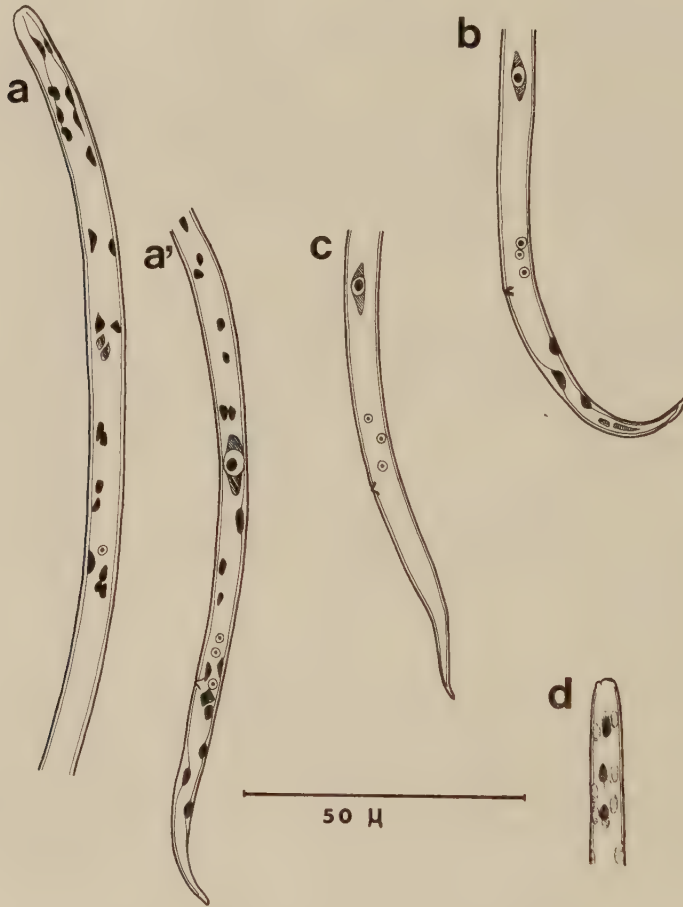


FIG. 23. — *Onchocerca gutturosa*. — A et A' : une microfilaire dermique, en vue latérale. — B et C : différentes positions des cellules R chez d'autres microfilaries dermiques. — D : détail de la disposition des noyaux sous-cuticulaires

stries qui joignent l'apex à deux noyaux sous-cuticulaires antérieurs. Noyaux sous-cuticulaires très chromophiles, petits, généralement triangulaires, à cytoplasme plus clair ; trois noyaux sous-cuticulaires sont généralement bien visibles dans la pointe caudale (deux dorsaux, un ventral) ; les noyaux sous-cuticulaires semblent être ali-

gnés sur quatre files longitudinales dans la région antérieure dont deux semblent être latérales, et deux ventrale et dorsale. Cellule excrétrice : le cytoplasme et le pore excréteur ne sont pas visibles ; le noyau excréteur est petit et rond.

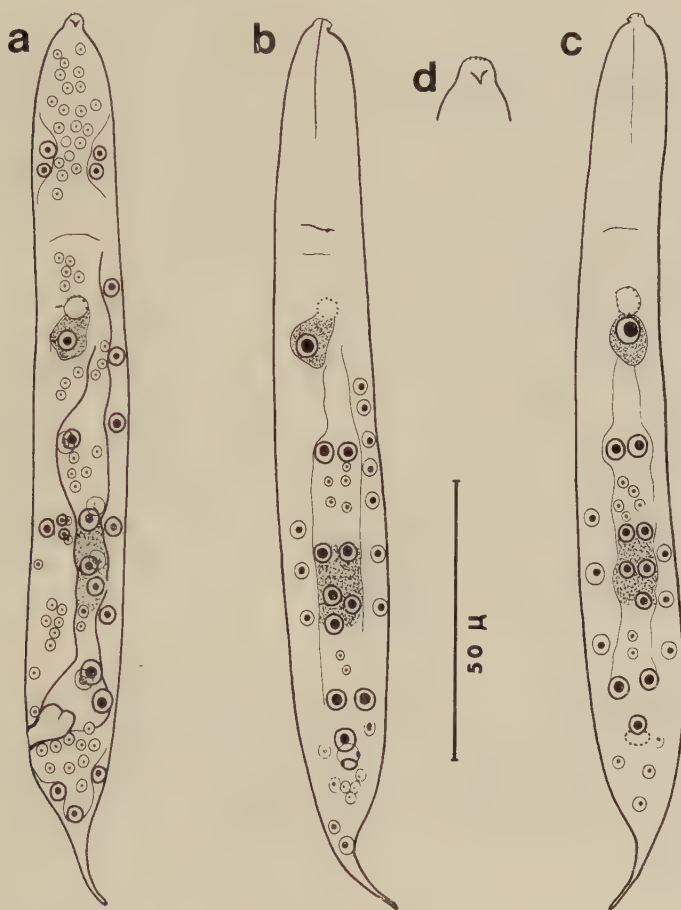


FIG. 24. — *Onchocerca gutturosa*, une larve de 72 h. — A : vue latérale. — B : vue ventrale. — C : vue dorsale (en B et C, les noyaux de la colonne nucléaire et les noyaux sous-cuticulaires ne sont pas représentés dans la région antérieure). — D : crochet céphalique vu de face, à main levée

Cellules R : R_1 est très éloigné de R_2 à R_4 ; cette cellule est ovoïde, souvent effilée dans son grand axe, avec un cytoplasme chromophile ; le noyau est grand et ovoïde. R_2 , R_3 et R_4 sont groupés près du pore anal, R_2 et R_3 étant souvent plus rapprochés entre eux ; seuls les noyaux, petits et ronds, sont visibles.

2) *Microfilaires prélevées dans l'utérus.*

Ces microfilaires prennent une légère teinte bleutée, homogène ; aucune cellule ne se colore sélectivement.

LARVE DE 72 HEURES (fig. 24).

Les trois images représentant cette larve montrent que la région située en avant de la cellule excrétrice n'est pas organisée ; les cellules sous-cuticulaires sont volumineuses, la région centrale de la larve est remplie de cellules polygonales à petits noyaux ronds et de taille égale. L'anneau nerveux est peu distinct. La cellule excrétrice a un cytoplasme développé ; son noyau est rond et volumineux ; le pore excréteur se dilate pendant le séjour dans le milieu d'observation. Postérieurement à la cellule excrétrice l'organisation est plus avancée ; d'arrière en avant, on voit :

- le bouchon rectal, petit, non saillant et les trois cellules rectales qui ne forment pas encore un rectum bien défini ;
- un cordon plein (bien visible en vue latérale) présentant différentes structures nucléaires et cytoplasmiques : deux petits noyaux près du rectum (prérectum), puis cinq gros noyaux ronds et vésiculeux entourés par un cytoplasme grenu (ébauche intestinale) ; ensuite cinq petits noyaux et deux gros noyaux ronds puis, dans la portion plus étroite située en arrière de la cellule excrétrice, trois petits noyaux, l'ensemble formant les ébauches valvulaire et œsophagienne ;
- quatre (?) petits noyaux situés près de la face ventrale du cordon intestinal pourraient être l'ébauche génitale.

Conclusion.

O. gutturosa, bien que très incomplètement étudiée, nous apporte les éléments indispensables à l'interprétation des figures représentant *O. volvulus* (cf. Bain, 1969 a) ; on constate que ces deux espèces, malgré une morphologie un peu atypique (existence de deux grosses cellules œsophagiennes, cordon digestif non rétréci au niveau de la valvule œsophagienne) s'interprètent de la même façon que les autres Filaires vivipares.

Rectifications morphologiques

Foleyella candezzei (Fraipont, 1882).

En 1970 a, nous n'avions pas observé la division de la cellule R_1 et nous représentions six cellules intestinales. Nous avons repris ce matériel pour apporter diverses précisions.

La cellule R_1 se divise vers la 48^e heure (à 24-26") ; l'ancien emplacement du corps interne est marqué par quelques granules réfringents (fig. 25).

Chez une larve de 72 h (fig. 25), le cordon digestif est mis en place, sauf dans la région située en avant de la cellule excrétrice ; le rectum comprend les trois cellules R_2 , R_3 et R_4 et les cellules du futur tube rectal qui sont accolées à la paroi de R_4 ; l'intestin

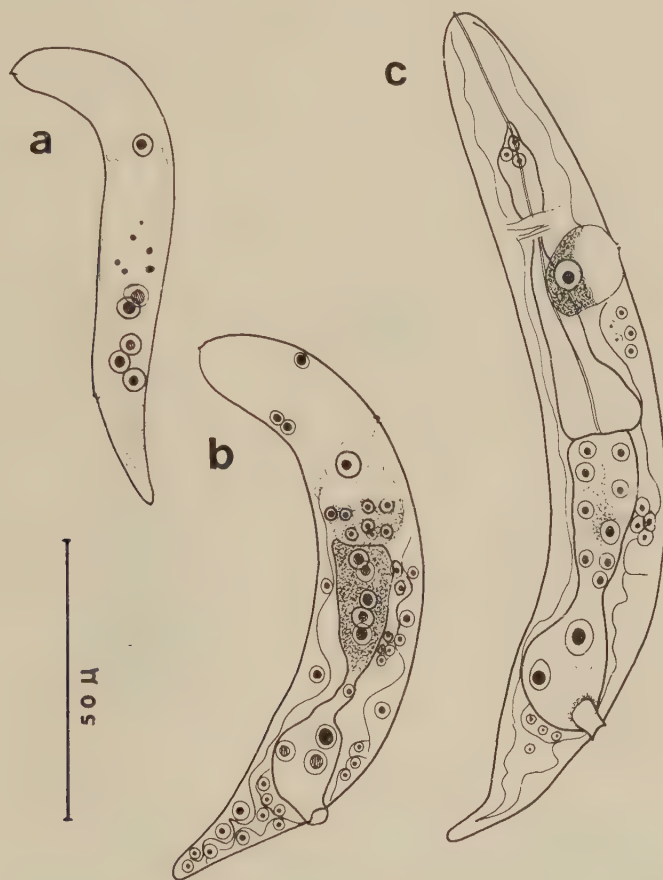


FIG. 25. — *Foleyella candezei*, stade I. — A : larve de 48 h ; R_1 divisé une fois. — B : larve de 72 h avec l'ébauche intestinale de 5 cellules. — C : larve de 96 h, juste avant la mue I

renferme cinq cellules ; il est relié au rectum par un isthme étroit de deux petites cellules (fig. 25 B) ; l'œsophage est un gros bourgeon multinucléé.

Les cellules intestinales se multiplient rapidement (larve de 96 h, fig. 25) ; l'organisation de l'œsophage progresse vers l'avant ; l'ébauche génitale est formée par quatre cellules.

A la mue I, la région buccale s'invagine ; entre la bouche et l'œsophage subsiste un segment préœsophagien bordé par deux massifs cellulaires. Au cours du stade II, un tube pharyngien cuticularisé s'intercale entre la cavité buccale et l'œsophage (fig. 26).

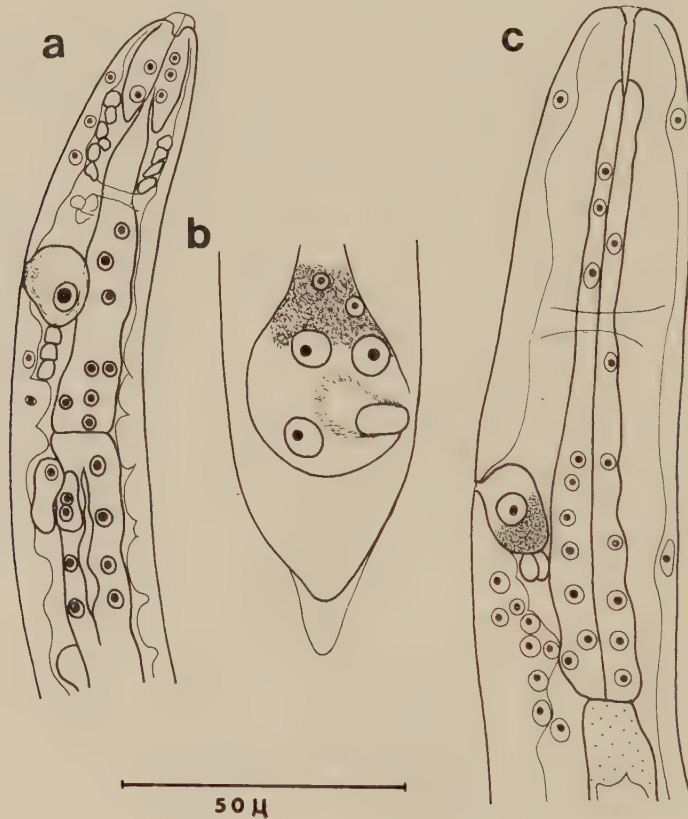


FIG. 26. — *Foleyetella candezei*. — A : mue I. — B : région caudale d'un stade II en vue semi-latérale. C : région antérieure d'un stade II en vue latérale

Oncobocerca volvulus (Leuckart, 1893).

La figure 27 précise que la région buccale du stade II a la même organisation que celle des autres Filaires : elle comprend une petite invagination buccale et un court segment pharyngien. Les figures 27 B et C montrent les deux positions de l'ébauche génitale chez les formes infestantes : au niveau de l'intestin chez les larves ♂ (B), au niveau de l'œsophage glandulaire chez les larves ♀ (C).

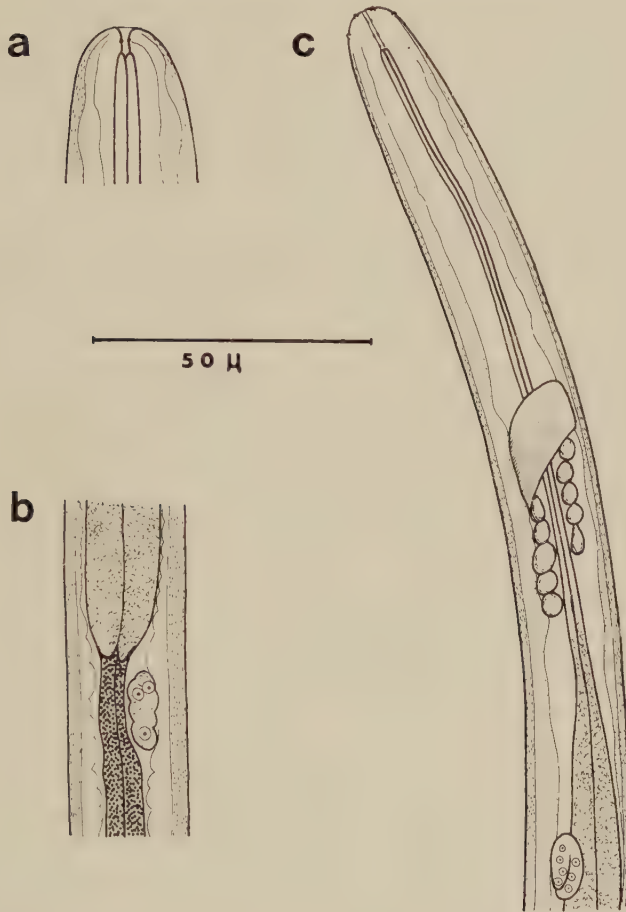


FIG. 27. — *Onchocerca volvulus*. — A : région céphalique d'un stade II. — B : ébauche génitale au niveau de l'intestin chez une forme infestante ♂, en vue latérale. — C : région antérieure d'une forme infestante ♀, en vue latérale

III. — CONCLUSIONS

Nous avons observé les cycles d'un Spiuride primitif (*Spirura*), d'un Spiruride évolué (*Draschia*), d'une Filare ovipare (*Serratospiculum*), et de neuf Filaires vivipares réparties dans les familles des Setariidae (*Setaria*) et des Onchocercidae (Dirofilarinae : deux *Foleyella* ; Onchocercinae : deux *Dipetalonema*, deux *Onchocerca*, un *Wuchereria* ; Eufilarinae : *Saurositus*) ; dans ce vaste groupe des Spirurina, les larves à l'éclosion ont la même anatomie et le déroulement de l'organogenèse s'effectue suivant un plan constant.

1. La microfilaire.

Avant de décrire l'organogénèse chez le vecteur, nous devons préciser l'anatomie de la larve à l'éclosion ; bien que notre contribution personnelle à cette question soit faible, il nous semble donc utile de rappeler quelques notions importantes sur l'anatomie des microfilières au début de nos conclusions.

A) Anatomie d'une microfilaire (fig. 28 A et A').

Les microfilières, quelles que soient les espèces auxquelles elles appartiennent, ont une organisation constante qui a été mise en évidence depuis longtemps par la coloration au Giemsa, les colorations vitales et la coloration au vert de méthyle-Pyronine (Noe, 1901 ; Rodenwalt, 1908 ; Golvan, 1957) ; certaines structures ont été précisées récemment par l'utilisation de nouvelles techniques : observation au microscope à UV (Taylor, 1960), au microscope électronique (Kozek, 1968 ; Mac Laren, 1969) et mise au point de colorations histochimiques (Laurence et Simpson, 1968).

La microfilaire est allongée et mobile, la tête porte un crochet cuticularisé, probablement actionné par deux cellules antérieures mises en évidence par Taylor (« hook muscle cells ») (1960) et par Laurence et Simpson (1968) ; elles sont parfois colorées sélectivement par l'Azur II (Bain, 1970). La cuticule est doublée par une couche de cellules sous-cuticulaires à cytoplasme fibrillaire (« muscle cells » de Taylor, 1960), qui est responsable de la mobilité de la microfilaire. Le corps de la microfilaire est occupé par les noyaux de la colonne nucléaire ; celle-ci s'interrompt sur une étroite bande transversale située vers le 1/4 antérieur de la microfilaire : l'espace anhyste ainsi formé correspond à l'anneau nerveux ; Taylor (1960) a montré qu'il était bordé par deux cellules initiales nerveuses. Certains noyaux de la colonne nucléaire sont colorés sélectivement par les colorants vitaux ; le noyau excréteur est relié au pore excréteur par le cytoplasme de la cellule excrétrice qui est plus ou moins coloré et est situé vers le tiers antérieur de la microfilaire ; les quatre noyaux R_1 , R_2 , R_3 et R_4 (appelés autrefois « G-cells » par Rodenwalt, 1908) sont situés dans la région postérieure de la microfilaire. Le noyau R_1 est souvent plus gros que les trois autres et fréquemment éloigné du groupe R_2 à R_4 ; R_4 est situé près du pore anal. En plus de ces noyaux mis régulièrement en évidence, Kobayashi, en 1940, signale l'existence, chez *Wuchereria bancrofti*, de deux cellules initiales de l'œsophage musculaire et de deux autres cellules initiales de l'œsophage glandulaire.

Dans la région moyenne du corps, en avant de R_1 , les microfilières présentent fréquemment une masse anhyste, réfringente, de forme et d'affinités tinctoriales variables, le corps interne. Il s'agit d'une substance de réserve (Coutelen, 1929).

Laurence et Simpson (1968) ont mis en évidence un axe qui s'étend de la tête de la microfilaire au corps interne et qu'ils nomment « pharyngeal thread », autour duquel se formera l'œsophage, que nous désignons sous le nom d'axe œsophagien.

La tête porte une paire de petites formations chromophiles, les « roten Mundgebilde » de Fülleborn (1913), que Kozek assimile à des amphides (1968) ; il existe une paire de formations analogues au niveau de la queue (« Schwanzgebilde ») que le même auteur (1968) assimile aux phasmides.

L'armature céphalique a été particulièrement bien étudiée par Laurence et Simpson (1968) ; elle comprend un crochet subapical qui borde le pore buccal et souvent, du côté opposé au crochet, des pointes cuticulaires.

Le plan d'organisation de la microfilaire est donc déjà bien connu ; nous pouvons y ajouter deux précisions :

a) sur la position du crochet céphalique : l'observation de trois espèces à microfilaires de grande taille (*Dipetalonema viteae*, *Setaria labiatopapillosa* et *Wuchereria bancrofti*) a montré que le crochet céphalique est situé sur le flanc gauche de la microfilaire. Les pièces accessoires sont situées sur le flanc droit ;

b) sur les noyaux sous-cuticulaires : généralement, les noyaux sous-cuticulaires sont représentés sous l'aspect de deux files longitudinales situées dans le plan de la figure. Fülleborn, en 1913, représente trois files de noyaux sous-cuticulaires. Chez *D. viteae* et *Onchocerca gutturosa*, les cellules sous-cuticulaires nous ont paru être disposées en quatre files longitudinales.

B) Analogies entre l'anatomie d'une microfilaire et celle d'une larve de Filaire ovipare ou de Spiruride.

Les liens phylétiques entre les Spirurides, *sensu lato*, et les Filaires sont si étroits que les limites entre ces deux groupes sont purement conventionnelles.

L'œuf de *Draschia megastoma* (fig. 3) libère un petit embryon, mince, allongé, qui a la silhouette et la morphologie interne d'une microfilaire : cellules sous-cuticulaires, colonne nucléaire, cellule excrétrice et cellule rectale R_1 à R_4 .

La larve nouvellement éclos de *Spirura guyanensis* (ou celle de *Serratospiculum tendo*) est mobile mais diffère beaucoup à première vue d'une microfilaire par sa grande taille, sa robustesse et son organisation assez avancée (fig. 1) : œsophage formé dans la région postérieure, sac intestinal ébauché et rempli de granules métaboliques. Mais ce type de larve possède les quatre cellules rectales caractéristiques des microfilaires (nous n'avons pas vu nous-mêmes la cellule R_1 chez les Filaires ovipares, mais Anderson la représente très clairement chez deux *Diplotrinae* en 1957 et 1962). La présence de ces cellules, et principalement de la cellule R_1 , permet de préciser les analogies entre les structures de la larve de Spiruride et celles de la microfilaire : la cuticule de la larve de Spiruride est tapissée par de gros noyaux qui sont l'équivalent des noyaux sous-cuticulaires ; la région antérieure de la larve de Spiruride est inorganisée et remplie de gros noyaux, assimilables aux noyaux de la colonne nucléaire ; les deux gros noyaux, appendus à l'apex de la larve de *S. guyanensis* semblent être les équivalents des deux « hook-muscle cells » ; les granules métaboliques contenus dans le sac intestinal de la larve Spiruride correspondent au corps interne. Chez la microfilaire les noyaux intestinaux ne sont pas visibles mais nous allons voir qu'au début du développement, ils apparaissent à l'emplacement du corps interne ; il est donc probable que le sac intestinal existe chez la microfilaire, mais l'extrême réduction des dimensions ne permet pas de le discerner.

2. L'organogenèse (fig. 28 et 29).

Le point le plus délicat de l'organogenèse larvaire des Filaires était le devenir de la cellule R_1 ; en 1970 (b), nous avons montré qu'elle est à l'origine de toute la musculature de l'adulte ; nos observations sur deux Spirurides confirment ces résultats ; Laurence (1971) apporte également un appui à notre interprétation en décrivant chez *Brugia pahangi* (Buckley et Edeson, 1956), la migration des quatre cellules filles de R_1 vers la périphérie du corps. La cellule R_1 , initiale mésenchymateuse, a le même aspect que les trois vraies cellules rectales car, comme elles, elle est d'origine ectodermique.

Dans ces conclusions, nous laissons donc de côté la question de la cellule R_1 et nous exposons le reste de l'organogenèse en insistant sur les structures qui restaient imprécises.

A) Formation du rectum.

Il comprend les trois cellules rectales (R_2 et R_3 latéro-ventrales ; R_4 dorsale) qui ont une grande activité glandulaire aux stades I et II puisqu'elles sécrètent le bouchon anal ; mais le rectum comprend également un groupe de cellules précocement accolées aux précédentes, près du pore anal ; au cours du stade II et surtout pendant la maturation de la forme infestante ces petites cellules forment un tube rectal qui s'intercale entre les cellules R_2 à R_4 et l'anus.

Le bouchon anal est essentiellement sécrété au premier stade ; à la mue I, il se décolle des cellules R_2 à R_4 ; l'espace ainsi créé est occupé par une bordure striée radiairement.

B) Le prérectum.

L'intestin et le rectum sont reliés par un isthme étroit, souvent très allongé, binucléé (probablement une cellule dorsale et une cellule ventrale). Cet organite, non décrit par les auteurs précédents, est toutefois clairement représenté par Anderson chez une Filaire ovipare (1957).

C) Formation de l'intestin.

Si le nombre des cellules initiales qui constituent l'intestin est difficile à préciser chez les Spirurides, il semble être égal à cinq chez les Filaires ovipares (Anderson, 1957 et 1959) et chez la plupart des Filaires vivipares.

Les divisions nucléaires de l'ébauche intestinale débutent assez tardivement, un peu avant la mue I. A ce moment l'intestin se creuse et commence à se remplir de déchets du métabolisme ; ils sont expulsés à la mue II, quand s'effectue la communication entre les lumières intestinale et rectale.

D) Formation de l'œsophage (fig. 28).

La majeure partie des noyaux œsophagiens semble être déjà présente chez la microfilaire. Pour former l'œsophage, ils se regroupent autour de l'axe cuticulaire qui s'étend de l'apex jusqu'à l'ébauche intestinale de la microfilaire. Chez la microfilaire, cet axe

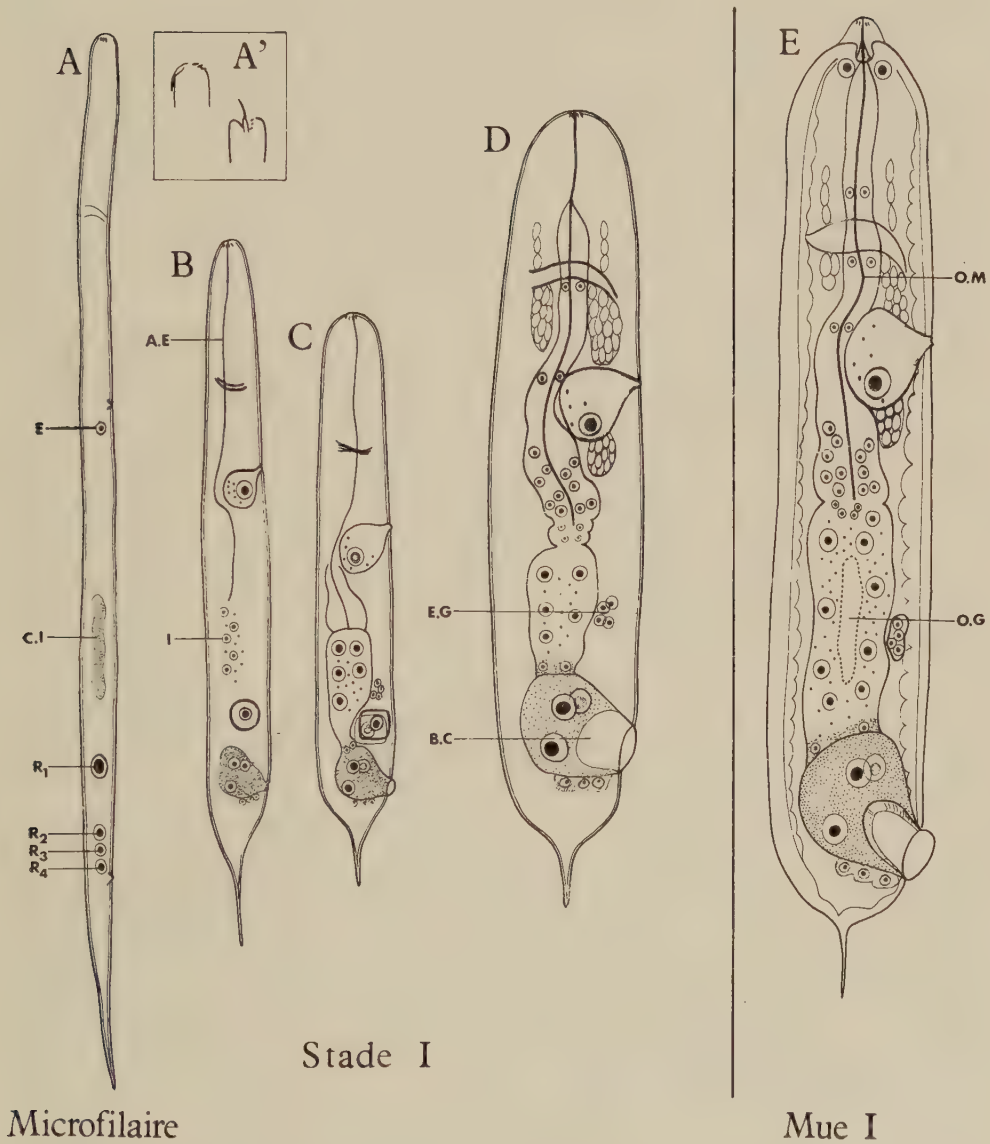


FIG. 28. — Schéma indiquant l'organogénèse d'une Filiaire vivipare (le mésenchyme, issu de la cellule R_1 , n'est plus représenté à partir de la figure D)

n'est en général visible que dans la région céphalique ; il n'est entièrement visible qu'exceptionnellement chez les microlaires à frais ; mais il devient net dès le début du développement larvaire.

L'œsophage se constitue progressivement d'arrière en avant et offre, dès sa formation, une structure hétérogène : la partie postérieure est trapue et riche en noyaux tandis que la partie antérieure est allongée avec des noyaux dispersés. Dans certains cas (*S. labiatopapillosa*, cf. Bain, 1970 c), l'œsophage paraît être formé par trois ébauches : une large ébauche postérieure, une courte ébauche intermédiaire située dorsalement par rapport à la cellule excrétrice et une longue ébauche antérieure. Ces trois ébauches pourraient correspondre respectivement, d'arrière en avant, au bulbe, à l'isthme et au corpus ; mais chez les autres Filaires ces trois ébauches seraient plus précocement fusionnées.

L'ébauche antérieure de l'œsophage est initialement éloignée de l'apex de la larve ; à la fin du premier stade elle s'étend vers l'avant, et, à la mue I, il ne subsiste entre la bouche et l'œsophage qu'un court segment cuticularisé.

L'œsophage, une fois mis en place, subit une importante croissance en longueur qui s'effectue durant le deuxième stade et la maturation de la forme infestante. La région œsophagienne postérieure, située en arrière de la cellule excrétrice se modifie : les multiplications nucléaires sont abondantes et entraînent un épaississement de la paroi œsophagienne. Celle-ci renferme finalement deux types de noyaux : des noyaux ovoïdes espacés qui bordent la lumière œsophagienne, et de nombreux noyaux arrondis qui constituent un épais cortex œsophagien. Les noyaux axiaux étant identiques à ceux de la région antérieure de l'œsophage, nous pensons que ce sont les noyaux œsophagiens *sensu stricto*, tandis que les noyaux du cortex sont les noyaux des glandes œsophagiennes. Cette partie postérieure de l'œsophage se charge de granules de sécrétion. La région antérieure de l'œsophage, ou œsophage musculaire ne subit guère de modifications et les multiplications cellulaires y semblent rares.

Chez les Spirurides, les noyaux de l'œsophage sont appliqués contre l'axe œsophagien chez la larve nouvellement éclos. Au cours du développement, l'œsophage s'individualise par un regroupement des noyaux et une croissance cytoplasmique ; au début du premier stade, il y a un type rhabditoïde qui s'estompe rapidement. Le deuxième stade est marqué par une abondante multiplication nucléaire dans l'œsophage postérieur qui affecte surtout les noyaux glandulaires. Ce plan d'organisation est donc identique à celui des Filaires vivipares ; l'existence d'un œsophage tripartite (bulbe, isthme et corpus du type ancestral Rhabditide) chez la larve à l'éclosion des Spirurides explique la formation de l'œsophage de certaines Filaires, par exemple, *S. labiatopapillosa*, à partir de trois ébauches indépendantes (Bain, 1970).

E) Transformation de la région céphalique (fig. 29).

Chez les Filaires vivipares, la région céphalique est très exiguë et l'étude de son évolution est difficile. Plusieurs problèmes concernant cette région ont été clarifiés grâce aux observations effectuées chez les larves de Spirurides.

a) Morphogenèse du pharynx chez les Spirurides. La morphogenèse du pharynx

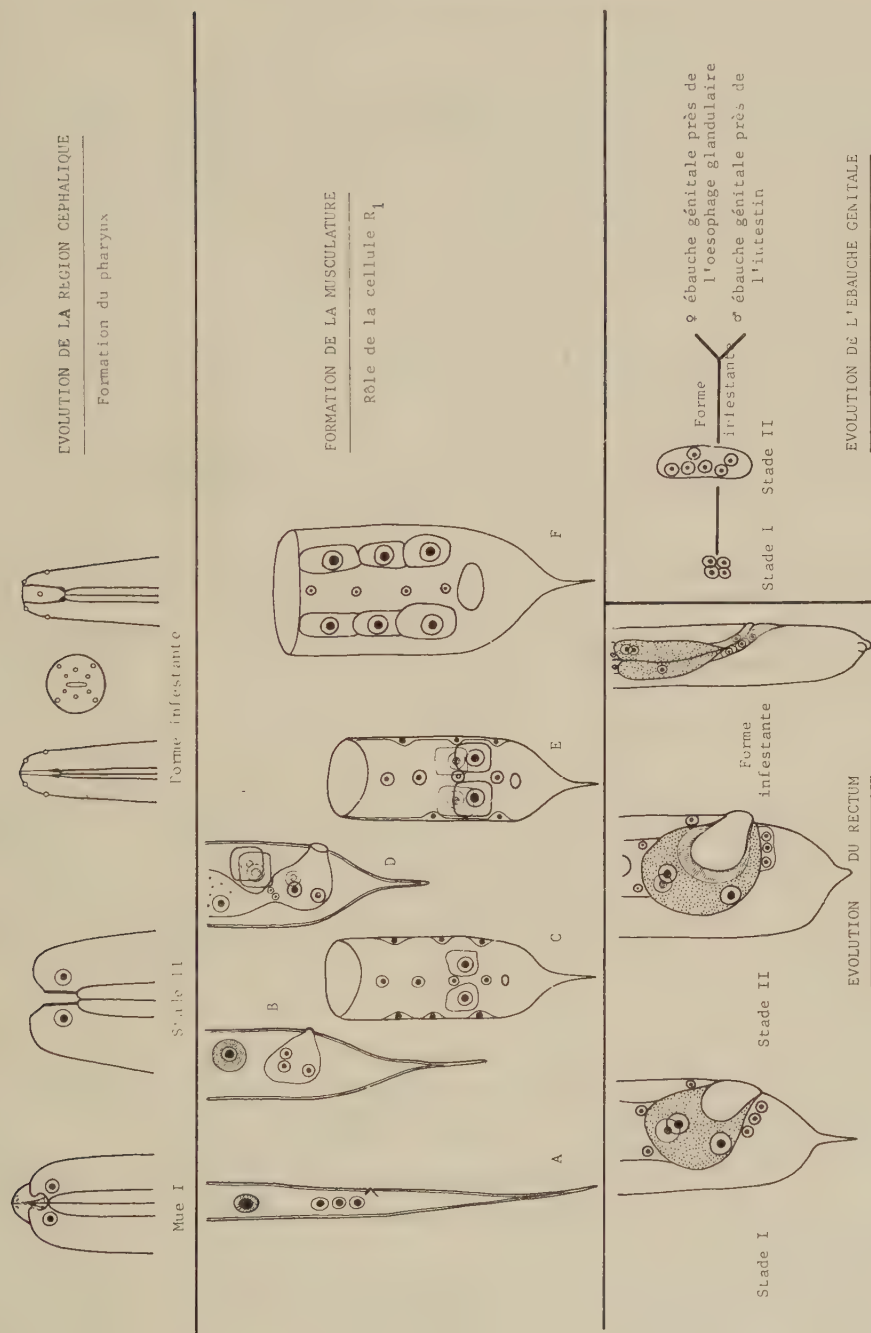


FIG. 29. — Formation de la région céphalique, de la musculature, du rectum et de l'ébauche génitale chez une Filaire

a été suivie sur *D. megastoma* (fig. 7), mais s'applique aux autres Spirurides (Quentin, 1969 *a* et *b* et 1970).

Le pore buccal de la larve du premier stade est relié à l'œsophage par un segment cuticulaire plein. A la mue I, la région péri-buccale s'invagine et forme une petite cavité en entonnoir, qui arrive directement au contact de l'œsophage. Pendant le stade II, un tube cuticulaire vient s'intercaler entre cette cavité buccale et l'œsophage ; ce tube est d'abord très court, puis s'allonge fortement ; il est très sclérifié ; il constitue le pharynx. La jonction de la cavité buccale et du pharynx est soulignée par des dents (quatre chez *D. megastoma*, mais trois ou six chez d'autres Spirurides).

L'ébauche pharyngée du jeune deuxième stade est bordée dorsalement et ventralement par deux très gros noyaux ronds, à nucléole volumineux ; ils persistent jusqu'au stade infestant. Nous pensons qu'ils jouent un rôle dans la formation du pharynx et qu'ils sécrètent l'épaisse cuticule de cet organite.

b) Morphogenèse de la capsule buccale chez les Filaires (fig. 29). Chez la microfilaire et la larve du premier stade, le pore buccal est relié à l'œsophage par un court segment cuticulaire, qui est l'apex de l'axe œsophagien. A la mue I, la cuticule péri-buccale s'invagine et forme une petite cavité en forme d'entonnoir. Au stade II, l'œsophage est séparé de la bouche par un tube cuticularisé, formé par un ou deux anneaux superposés ; chez deux grandes espèces (*S. labiatopapillosa* et *W. bancrofti*), ce tube apparaît bordé par deux gros noyaux médians (dorsal et ventral). Leur nombre et leur position font penser qu'ils pourraient provenir de la transformation des « hook muscle cells ». Chez la forme infestante, ce tube n'est sclérifié qu'à sa jonction avec l'œsophage. Il est aplati latéralement, comme la bouche. Il est habituellement nommé : « capsule buccale ».

c) Homologie entre le pharynx des Spirurides et la capsule buccale des Filaires. Ainsi, dans les deux groupes des Spirurides et des Filaires, l'évolution de la région céphalique est la même jusqu'au début de la mue I ; ensuite, il se forme chez les Spirurides un volumineux pharynx sécrété par les deux gros noyaux médians et chez les Filaires un petit tube cuticularisé, lui aussi bordé par deux gros noyaux médians. Nous pensons donc que la cavité buccale des Filaires est l'homologue de la pièce que nous nommons pharynx chez les Spirurides.

F) Formation de l'ébauche génitale (fig. 29).

Chez *S. guyanensis*, les cellules génitales sont grandes ; elles peuvent être sûrement dénombrées. Au début du développement, l'ébauche génitale est formée par quatre cellules ; chacune est bien délimitée ; il existe deux cellules postérieures volumineuses et deux cellules antérieures plus petites, disposées l'une derrière l'autre. Plus tard, les limites cellulaires s'estompent, mais l'ébauche génitale reste à quatre noyaux pendant tout le premier stade.

Chez les différentes espèces de Filaires où les structures étaient assez nettes, quatre noyaux ont été comptés dans l'ébauche génitale, au stade I. Ce chiffre correspond aux observations effectuées chez les autres Nématodes (Nigon, *in* Grassé, 1965). Chez

S. labiatopapillosa, nous avons observé deux paires de petites cellules latéro-ventrales, situées à mi-hauteur de l'intestin. En raison de leur nombre et de leur position, nous pensons que ce sont les initiales génitales qui finiront par se fusionner dans le plan sagittal. L'ébauche génitale subit une seule phase de multiplication cellulaire au cours du stade II, puis elle arrête son développement. A la fin du deuxième stade et chez la forme infestante, l'ébauche génitale est située soit au niveau de l'œsophage, soit au niveau de l'intestin. Chabaud a observé pour la première fois ces deux positions chez *D. viteae* (1954) et en a donné une interprétation : chez les larves ♀, l'ébauche génitale, située initialement près de l'intestin, migre vers la région antérieure où s'ouvrira la vulve de l'adulte.

G) Appareil excréteur.

La cellule excrétrice est déjà visible chez la microfilaire. Elle devient très volumineuse dès le début du développement. Au deuxième stade, la naissance des canaux excréteurs latéraux est bien visible. Chez la forme infestante, la cellule excrétrice est réduite, souvent difficile à voir.

H) Système nerveux et appareil sensoriel.

De nombreuses cellules de la colonne nucléaire se regroupent sous l'anneau nerveux ; la taille des cellules augmente mais aucune division n'a été observée. Finalement, il existe quatre massifs ganglionnaires : un ventral, souvent le plus long, deux latéraux et un dorsal court. L'anneau nerveux est incliné vers la face ventrale. Des cellules ganglionnaires reliées à l'anneau nerveux sont dirigées vers l'apex. Un petit massif ganglionnaire est appendu à la cellule excrétrice.

L'appareil sensoriel chez les Filaires vivipares n'est bien visible que chez la larve infestante ; en plus des deux amphides, il est régulièrement constitué par quatre papilles labiales externes, disposées en carré près de la bouche, et quatre papilles céphaliques disposées de la même façon mais plus postérieurement.

Les nouveaux cycles filariens que nous décrivons ici montrent que la microfilaire comprend, outre un revêtement ectodermique simplement constitué par quatre files de cellules, plusieurs bourgeons :

Les bourgeons œsophagiens et rectaux (R_2 , R_3 , R_4 et tube rectal), d'origine ectodermique.

Le bourgeon intestinal, généralement à cinq cellules, d'origine endodermique.

Le bourgeon mésenchymateux, réduit à une cellule unique (R_1).

Les larves nouvellement écloses des Filaires ovipares et des Spirurides ne diffèrent pas de la microfilaire, mis à part une taille plus grande qui rend les structures plus nettes.

Chez toutes ces larves, la mobilité est assurée par les myofibrilles des cellules du revêtement ectodermique.

L'éclosion de ces larves à un stade embryonnaire nous paraît être un phénomène adaptatif très remarquable qui permet aux adultes d'émettre un nombre considérable de larves, car la suite de l'embryogénèse s'effectuera chez l'Arthropode vecteur.

Bibliographie

- ABE (S.), 1937. — Development of *Wuchereria bancrofti* in the mosquito, *Culex quinquefasciatus*. *J. Med. Ass. Formosa*, 36, 483-519 (en japonais, résumé en anglais).
- ANDERSON (R. C.), 1957. — Observations on the cycles of *Diplotriaenoides translucidus* Anderson and members of the genus *Diplotriaena*. *Canad. J. Zool.*, 35, 14-24.
- , 1962. — On the development, morphology and experimental transmission of *Diplotriaena bargusinica* (Filarioidea: Diplotriaenidae). *Canad. J. Zool.*, 40, 1175-1186.
- BAIN (O.), 1969 a. — Morphologie des stades larvaires d'*Onchocerca volvulus* chez *Simulium damnosum* et redescription de la microfilaire. *Ann. Parasitol.*, 44, 69-82.
- , 1969 b. — Etude morphologique du développement larvaire de *Foleyella furcata* chez *Anopheles stephensi*. *Ann. Parasitol.*, 44, 165-172.
- , 1969 c. — Développement larvaire de *Saurosis agamae hamoni* n. s. sp., Eufilariinae parasite d'Agame en Haute-Volta, chez *Anopheles stephensi*. *Ann. Parasitol.*, 44, 581-594.
- , 1970 a. — Etude morphologique du développement larvaire de *Foleyella candezei* chez *Anopheles stephensi* et *Aedes aegypti*. *Ann. Parasitol.*, 45, 21-30.
- , 1970 b. — La cellule R₁ des microfilaires (Nematoda), initiale du mésenchyme. *Ann. Parasitol.*, 45, 227-235.
- , 1970 c. — Morphologie larvaire de *Setaria labiatopapillosa* (Nematoda, Filarioidea) chez *Aedes aegypti*. *Ann. Parasitol.*, 45, 431-439.
- et VASSILIADIS (G.), 1969. — Cycle évolutif d'un Dicheilonematinae, *Serratospiculum tendo*. Filaire parasite du Faucon. *Ann. Parasitol.*, 44, 595-604.
- CHABAUD (A. G.), 1954. — Sur le cycle évolutif des Spirurides et des Nématodes ayant une biologie comparable. Valeur systématique des caractères biologiques. *Ann. Parasitol.*, 29, 42-88, 206-249, 358-425.
- COUTELEN (F.), 1929. — Nature et rôle biologique du corps central interne des microfilaires. *Ann. Parasitol.*, 7, 410-418.
- FENG (L. G.), 1936. — The development of *microfilaria malayi* in *A. hyrcanus* var. *sinensis* Wied. *Chinese Med. J.*, suppl. 1, 345-367.
- FÜLLEBORN (F.), 1913. — Beiträge zur Morphologie und Differentialdiagnose der Mikrofilarien. *Archiv f. Schiffs. Tropenhyg.*, 17, 7-72.
- GOLVAN (Y. J.), 1957. — Les principales techniques de coloration des microfilaires sanguicoles. *Bull. Soc. Path. exot.*, 50, 143-157.
- KOBAYASHI (H.), 1940. — On the development of *Microfilaria bancrofti* in the body of the mosquito (*Culex fatigans*). *Acta Jap. Med. trop.*, 2, 63-88.
- KOZEK (W. J.), 1968. — Unusual cilia in the microfilaria of *Dirofilaria immitis*. *J. Parasitol.*, 54, 838-844.
- LAURENCE (B. R.) et SIMPSON (M. G.), 1968. — Cephalic and pharyngeal structures in microfilariae revealed by staining. *J. Helm.*, 42, 309-330.
- , —, 1971. — The microfilaria of *Brugia*: a first-stage nematode larva. *J. Helminth.*, 45, 23-40.

- MARTINI (E.) in GRASSE (P.-P.), 1965. — Traité de Zoologie. Némathelminthes, Edit. Masson et C^{ie}, Paris, 4, 731 pp.
- NELSON (G. S.), 1962. — Observations on the development of *Setaria labiatopapillosa* using new techniques for infecting *Aedes aegypti* with this nematode. *J. Helm.*, 36, 281-296.
- , 1963. — *Dipetalonema dracunculoides* (Cobbold, 1870) from the dog in Kenya; with a note on its development in the louse, *Hippobosca longipennis*. *J. Helminth.*, 37, 235-240.
- NIGON (V.) in GRASSE (P.-P.), 1965. — Développement et reproduction des Nématodes. Traité de Zoologie. Némathelminthes, Edit. Masson et C^{ie}, Paris, 4, 731 pp.
- QUENTIN (J.-C.), 1969 a. — Cycle biologique de *Pterygodermatites desportesii* (Chabaud et Rousselot, 1956), Nematoda, Rictulariidae. *Ann. Parasitol.*, 44, 47-58.
- , 1969 b. — Cycle biologique de *Protopirura muricola* Geddoelst, 1916 (Nematoda Spiruridae). *Ann. Parasitol.*, 44, 485-504.
- , 1970. — Cycle biologique de *Rictularia pruni*, Seurat, 1915, Nematoda Rictulariidae. Ontogénèse des structures céphaliques. *Ann. Parasitol.*, 45, 89-103.
- , sous presse. — Présence de *Spirura guyanensis* chez les Marsupiaux néotropicaux. Cycle évolutif. *Ann. Parasitol.*
- RODENWALT (E.), 1908. — Die Verteilung der Mikrofilarien im Körper und die Ursachen des Turnus bei *Microfilaria nocturna* und *diurna*. Studien zur Morphologie der Mikrofilarien. *Archiv f. Schiffs- u. Tropenhyg.*, 12, 5-30.
- ROUBAUD (E.) et DESCAZEUX (J.), 1921. — Contribution à l'histoire de la mouche domestique comme agent vecteur des habronemoses d'Equidés. Cycle évolutif et parasitisme de l'*Habronema megastoma* (Rudolphi, 1819) chez la mouche. *Bull. Soc. Path. exot.*, 14, 471-506.
- STEWART (J. S.), 1937. — The occurrence of *Onchocerca gutturosa* in cattle in England, with an account of its life history and development in *Simulium ornatum* Mg. *Parasitol.*, 29, 212-219.
- TAYLOR (A. E. R.), 1960. — Studies on the microfilaria of *Loa loa*, *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Dirofilaria immitis*, *D. repens* and *D. aethiops*. *J. Helm.*, 34, 13-26.

